

# 骨复生对激素性股骨头坏死大鼠骨组织中 OPG 及 RANK 表达的影响

李永志<sup>1</sup> 董博<sup>2△</sup> 欧国峰<sup>3</sup> 朱峰峰<sup>2</sup> 袁普卫<sup>2</sup>  
刘继华<sup>2</sup> 王国柱<sup>3</sup> 肖斌<sup>3</sup> 史国号<sup>3</sup> 霍洪亮<sup>3</sup>

**[摘要]** **目的:**基于动物模型探讨骨复生对激素性股骨头坏死大鼠骨保护素(OPG),受体活化因子(RANK)信号通路的影响。**方法:**将 80 只大鼠随机分为正常组、模型组、中药组、西药组 4 组,每组各 20 只。除正常组外其余各组连续 2 d 中每日经尾静脉注射 40 μg/kg 的脂多糖,之后每隔 3 d 臀部肌肉(所有动物统一从右侧臀大肌以 45°角匀速注射)注射地塞米松 25 mg/kg,连续注射 6 周。观察造模前后以及治疗前后的股骨头 X 线变化、组织病理学改变以及 OPG, NF-κB 基因表达情况。**结果:**1) 中药组、西药组双侧股骨头 X 线结果与正常组最为接近,股骨头大小形态正常,骨密度均匀,骨小梁清晰,但西药组仍有少部分密度不均匀;模型组股骨头密度不均,但股骨头仍完整,偶见透亮囊状阴影。2) 正常组细胞结构清晰,空骨陷窝较少见;中药组可见骨细胞大部分正常,空骨陷窝较少;西药组变化大致与中药组接近,但空骨陷窝较中药组多;模型组细胞结构紊乱、细胞萎缩、细胞集聚固缩,空骨陷窝明显存在。3) 中药组和西药组分别与模型组比较,中药组和西药组骨组织中 RANK 的表达均下调,且中药组下调更明显,而中药组和西药组骨组织中 OPG 表达均上调,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );中药组和西药组与正常组比较,骨组织中 OPG, RANKL 及 RANK 的表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ );中药组与西药组比较,骨组织中 OPG 的表达差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论:**骨复生可明显上调 OPG 的表达,下调 RANK 的表达,增加骨细胞形成,促进骨量上升,减少骨钙流失,促进骨质成熟,改善股骨头局部缺血缺氧环境,从而有效干预激素性股骨头坏死的形成。

**[关键词]** 骨复生;激素性股骨头坏死;骨保护素;受体活化因子;实验研究

**[中图分类号]** R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2018)11-0001-06

## Effect of Gufusheng on the Expression of OPG and RANK in Bone Tissue of Rats with Steroid-induced Femoral Head Necrosis

LI Yongzhi<sup>1</sup> DONG Bo<sup>2△</sup> OU Guofeng<sup>3</sup> ZHU Fengfeng<sup>2</sup> YUAN Puwei<sup>2</sup>  
LIU Jihua<sup>2</sup> WANG Guozhu<sup>3</sup> XIAO Bin<sup>3</sup> SHI Guohao<sup>3</sup> HUO Hongliang<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Shangluo City Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shangluo 726000, Shaanxi China;

<sup>2</sup>Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000, Shaanxi China;

<sup>3</sup>Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000, Shaanxi China.

**Abstract Objective:** The effects of Gufusheng on osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor-κB (RANK) signaling pathways in rats with steroid-induced femoral head necrosis were investigated based on animal models.

**Methods:** Eighty rats were randomly divided into normal group, model group, Chinese medicine group and western medicine group, with 20 rats in each group. Except for the normal group, the other groups were injected with 40 μg/kg lipopolysaccharide via caudal vein daily for 2 d, then dexamethasone 25 mg/kg was injected into the gluteal muscles every 3 d (all animals were injected uniformly from the right gluteal muscles at 45°) for 6 weeks. The X-ray changes, histopathological changes and the expression of OPG and NF-κB genes were observed before and after modeling and treatment. **Results:** 1) The X-ray results of the bilateral femoral

基金项目:陕西省咸阳市科学技术研究计划项目(2017K02-76)

陕西省中医管理局中医药科研项目(15-SCJH004)

国家中医药管理局国家中医临床研究基地业务建设科研专项(2JDZX2015280)

陕西省重点科技创新团队项目(2013KJT-26)

全国名老中医药专家刘德玉传承工作室建设资助项目

<sup>1</sup> 陕西省商洛市中医医院(陕西 商洛, 726000)

<sup>2</sup> 陕西中医药大学附属医院

<sup>3</sup> 陕西中医药大学第二附属医院

△通信作者 E-mail: 297065203@qq.com

heads in the Chinese medicine group and the western medicine group were the closest to the normal group. The size and shape of the femoral head were normal, the bone density was uniform, and the trabecular bone was clear, but the western medicine group still had a small density unevenness. The density of femoral head in the model group was not uniform, but the femoral head was still intact, occasionally with bright cystic shadow. 2) The cell structure of the normal group was clear, and the empty bone lacuna was less common; the Chinese medicine group showed that most of the bone cells were normal, and the empty bone lacuna was less; the change of the western medicine group was similar to that of the traditional Chinese medicine group, but the empty bone lacuna was more than the traditional Chinese medicine group; The model group had cell structure disorder, cell atrophy, cell agglomeration and pyknosis, and the number of empty bone sag was obvious. 3) Compared with the model group, the expressions of RANK in the Chinese medicine group and the western medicine group were down-regulated, and the traditional Chinese medicine was used. The down-regulation of the group was more obvious, while the expression of OPG in the bone tissue of the Chinese medicine group and the western medicine group was up-regulated ( $P < 0.05$ ). There was no difference in the expression of OPG, RANKL and RANK between the Chinese medicine group and the western medicine group compared with the normal group ( $P > 0.05$ ). The expression of OPG in bone tissue was significantly different between Chinese medicine group and western medicine group ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** The results of this study indicate that bone rejuvenation can significantly up-regulate the expression of OPG, down-regulate the expression of RANK, increase bone cell formation, promote bone mass increase, reduce bone calcium loss, promote bone maturation, and effectively improve the ischemic and anoxic environment of the femoral head. Thereby effectively intervening in the formation of steroid-induced femoral head necrosis.

**Keywords:** Gufusheng; steroid-induced femoral head necrosis; osteoprotegerin (OPG); receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B (RANK); experimental study

股骨头坏死 (Osteonecrosis of the Femoral Head, ONFH) 是骨科较为常见的临床难治性疾病, 且发病越来越年轻化, 在美国及欧洲国家, 各国据不完全统计约有  $(2 \sim 6) \times 10^6$  股骨头坏死的病人<sup>[1,2]</sup>。目前激素所导致的股骨头坏死已经占据股骨头坏死中的首位, 这将是目前乃至未来骨科医生面临的疑难杂症之一<sup>[3,4]</sup>。如果在股骨头发生坏死的早期或者中期确定治疗或者提前使用中药干预, 不是在出现了症状才采取治疗措施, 其发病率将会大大降低<sup>[5]</sup>。有研究发现<sup>[6,7]</sup> 补肾活血中药能够通过上调骨保护素 (Osteoprotegerin, OPG) 的基因表达水平, 下调核因子 (NF- $\kappa$ B) 受体活化因子 (RANK)、细胞核因子 KB 受体活化因子配体 (RANKL) 的基因表达水平有效地促进骨细胞、成骨细胞和软骨细胞的生长, 促进骨的修复, 防止 SANFH 的细胞凋亡。且笔者前期的研究结果显示<sup>[8-10]</sup> 骨复生可提高胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 与转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 的水平, 促进坏死组织的修复。那么, 对于股骨头坏死的中医药防治而言, 探索其现代药理作用机制, 是目前研究的方向和重点。骨复生作为以补肾活血为主治疗股骨头坏死的经验方, 是否能通过影响 OPG, RANK 的表达来防治股骨头坏死的演变呢? 因此, 本研究基于动物模型探讨骨复生预防性治疗激素型股骨头坏死的分子机制, 研究干预前后 OPG 及 RANK 的表达情况, 为中医药防治股骨头坏死提供一定的理论依据, 具体研究过程报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

健康 3 月龄普通级 SD 大鼠 80 只, 雌雄各半, 体

质量大约 250 g~280 g, SD 大鼠由中国人民解放军第四军医大学实验动物中心提供, 检疫均符合实验标准, 生产许可证号 SCXK(军)2012-0007。

### 1.2 实验药物

骨复生由鹿角霜 15 g, 土鳖虫 12 g, 丹参 20 g, 牛膝 12 g 等组成, 购自陕西中医药大学附属医院中草药房, 将上述中药置于砂锅容器中, 加入 800~1 000 mL 水煎煮 30 min 后过滤中药液, 再加入 400~600 mL 煎煮 20 min 过滤中药液, 将两次中药液混合继续煎煮 10~20 min 浓缩成高浓度中药液放入 -4 °C 冰箱备用; 阿仑膦酸钠片 (福善美), 国药准字 H20010515, 生产企业为杭州默沙东制药有限公司。

### 1.3 实验仪器与试剂

石蜡切片机 (莱卡 2135 型, 德国); 电子显微镜, (OLYMPUS, 日本); ABI 7500 Fast Real-Time PCR System (ABI, 美国); PCR-96-FLT-C, (AXYGEN, 美国); 脂多糖 (LPS) (北京索莱宝科技有限公司); 苏木素-伊红染色试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司 (G1120)); RT-PCR Primer (上海生工生物工程股份有限公司合成); TaKaRa MiniBEST Universal RNA Extraction Kit, TaKaRa (9767); PrimeScript™ RT Master Mix (Perfect Real Time), TaKaRa (RR036A); SYBR® Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus), TaKaRa (RR820A)。

### 1.4 方法

**1.4.1 造模方法** 参照贺西京造模法<sup>[11]</sup> 进行适当改良建立激素型股骨头坏死动物模型, 从第 2 周开始除

正常组外其余各组连续 2 d 中每日经尾静脉注射 40 μg/kg 的脂多糖,之后每隔 3 d 臀部肌肉(所有动物统一从右侧臀大肌以 45°角匀速注射)注射地塞米松 25 mg/kg,连续注射 6 周。

**1.4.2 分组方法** 所有动物(80 只 SD 大鼠)适应喂养 1 周后将其随机分为正常组、模型组、中药组、西药组,每组各 20 只。

**1.4.3 干预方法** 除正常组、模型组外,中药组、西药组于第 7 周起按照相应的药物剂量灌胃给药,灌胃剂量(灌药的时间和操作方法等干扰因素基本一致)为: $X\text{ mg/kg}\times70\text{ kg}\times0.031/400\text{ g}=X\text{ mg/kg}\times70\text{ kg}\times0.031/0.4\text{ kg}=5.42\text{ X mg/kg}$ ,X(mg/kg)为人的临床剂量。根据上述公式计算出中药组动物每日灌胃药量≈580 mg/kg,西药组动物每日灌胃药量≈7.75 mg/kg,中药组和西药组连续灌胃 2 个月后处死取材(标本处理同上)。

**1.4.4 标本采集方法** 1)血液采取:随机抽取每组动物各 5 只(包括正常组、模型组、中药组治疗后、西药组治疗后),采用乙醚麻醉 SD 大鼠,待麻醉满意后,用微量采血管从大鼠眼眶下静脉丛处采血,将收集的血液放置在抗凝管中待测。2)股骨头组织标本采取:正常组动物饲养 2 周后、模型组于造模 6 周后采用 10%水合氯醛溶液按 4.0 mL/kg 腹腔注射麻醉,待麻醉满意后,将 SD 大鼠俯卧位固定于夹板上,在无菌条件下切开双侧髋关节并取出双侧股骨头,沿冠状面正中锯开并剔除周围肌肉及韧带等组织(以上过程均在无菌条件下进行),取一部分股骨头标本于 4%多聚甲醛溶液中固定 24~48 h,10%EDTA 脱钙 3~4 周(每隔 3 d 更换 1 次脱钙液),流水冲洗后常规石蜡包埋并切片;另外一部分股骨头标本用咬骨钳咬碎,置于无菌研钵内或用匀浆机将其迅速研成粉末,转移至匀浆管内,加入 Trizol 试剂,充分匀浆,移入 EP 管并放入-80℃

冰箱冻存待测。

**1.4.5 实验指标测定** 所有血液标本采集当天立即送往陕西中医药大学附属医院检验科进行肝肾功能的检测(包括肝功能:谷丙转氨酶 ALT、谷草转氨酶 AST、AST/ALT;肾功能:肌酐 CREA、尿素 UREA、血清尿酸 UA)。经脱钙后的股骨头骨组织标本常规包埋切片(每组的骨组织包埋后的标本最后切片各 15 张)行组织病理学观察(苏木精-伊红染色);经 Trizol 试剂均浆后股骨头骨组织标本(每组各 10 个均浆后的骨组织标本)行实时荧光定量 PCR 检测。

**1.5 统计学方法**

所有实验结果均用 SPSS19.0 进行统计学分析与处理,数据均以  $\bar{x}\pm s$  表示。单因素方差分析进行各组间方差分析,方差齐同时用 LSD 法,方差不齐时用 Tambane'S T2 法, $P<0.05$  差异有统计学意义。检验水准  $\alpha=0.05$ 。图表采用 GraphPad Prism 5 软件制作。

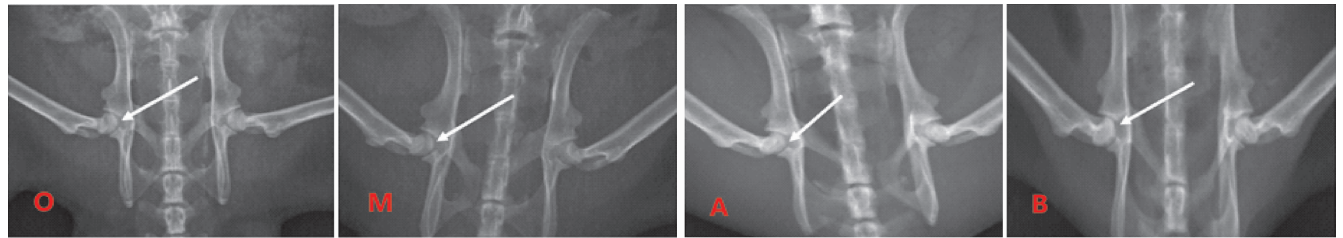
表 1 合成的 PCR 引物(Primer)信息

Primer 名称	引物序列(5'-to3')	碱基数
GAPDH-F	CAGAACATCATCCCTGCCTCT	21
GAPDH-R	GCTTGACAAAGTGGTCGTT-GAG	22
OPG-F	CAGAGCGAAACACAGTTTG	19
OPG-R	CACACAGGGTGACATCTATTC	21
RANK-F	ATGCGGTTTGCAGTTCTTCTC	21
RANK-R	ACTCCTTATCTCCACTTAGG	20

2 结果

2.1 影像学检查结果

各组随机筛选 5 只实验动物经 10%水合氯醛麻醉后置于 X 线下扫描,结果发现中药组与西药组的股骨头大体外观图像较为清晰,与正常组最为接近,中药组更优。中药组和西药组与模型组相比具有可比性,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见图 1。



O为正常组;M为模型组;A为西药组;B为中药组。中药组、西药组、正常组图像清晰(如箭头所示),中药组与正常组最为接近;模型组股骨头密度不均,但股骨头仍完整,偶见透亮囊状阴影(如图M箭头所示)

图 1 各组大鼠 X 线下扫描典型图像

2.2 组织病理学(苏木精-伊红染色)检测结果

正常组细胞结构清晰,大小、形态正常,空骨陷窝较少见;中药组可见骨小梁粗大,排列较规则,骨细胞大部分正常,空骨陷窝较少;西药组变化大致与中药组接近,但空骨陷窝较中药组多;模型组细胞结构紊乱、细胞萎缩、细胞集聚固缩,空骨陷窝明显存在,见图 2。

2.3 安全性检测结果

各实验组动物在试验过程后均进行安全性检测,其肝肾功能均未出现明显异常变化。中药组和西药组动物在灌胃过程中及灌胃后均无药物不良反应,偶有部分动物出现轻微的腹泻,体质量稍有减轻,但均不影响实验结果,见表 2-3。由此可见,骨复生治疗股骨头坏死疗效确切,安全可行。

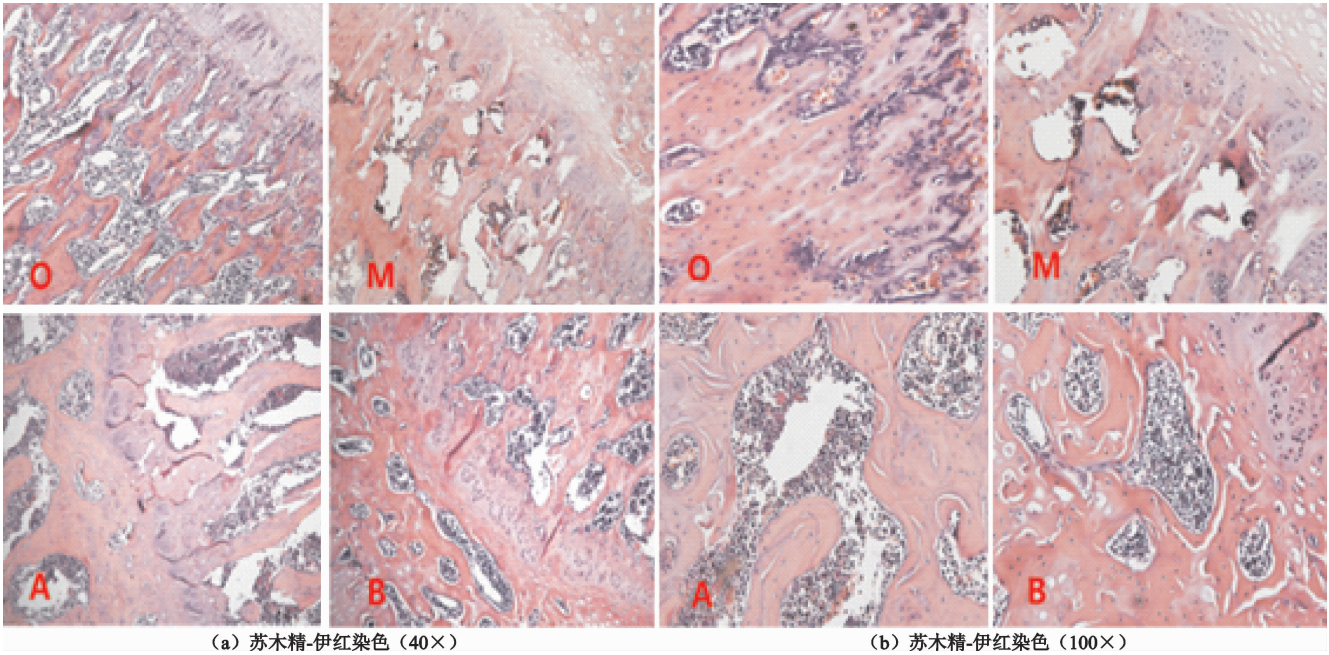


图 2 各组实验动物股骨头骨组织光镜下图片  
表 2 补肾活血方骨复生对大鼠肝功能的影响(±s)

组别	n	ALT(U/L)	AST(U/L)	AST/ALT
正常组	5	51.79±4.41	104.83±18.01	2.04±0.41
模型组	5	53.60±4.01	120.28±19.30	2.26±0.38
中药组	5	50.41±4.09	125.19±17.54	2.39±0.29
P		0.418	0.319	0.142

注:三组比较差异均无统计学意义(P>0.05)。

表 3 补肾活血方骨复生对大鼠肾功能的影响(±s,μmol/L)

组别	n	CREA	UREA	UA
正常组	5	22.02±1.80	5.59±1.29	164.13±46.86
模型组	5	22.73±2.18	5.40±0.73	179.81±12.20
中药组	5	20.11±2.15	5.43±0.80	186.27±20.21
P		0.046	0.091	0.395

注:模型组 SD 大鼠 CREA,UREA 和 UA 含量比正常组要高,差异有统计学意义(P>0.05);中药组 SD 大鼠 CREA 显著降低,与正常组、模型组比较差异有统计学意义(P<0.05)。中药组 SD 大鼠 UREA 和 UA 含量较正常组有升高趋势,但差异无统计学意义(P>0.05)。

2.4 PCR 检测结果

将检测到的相关基因 Ct 值采用相对定量的方法分析数据,即 2<sup>-ΔΔCt</sup>,分析各组的目的基因的表达量变化倍数。各组 OPG 及 RANK 的基因表达情况:模型组与正常组比较,模型组骨组织中 RANK 的表达均有所上调,而 OPG 的表达明显下调,正常组未见明显改变,且两组骨组织中 OPG 及 RANK 的基因表达差异有统计学意义(P<0.05);中药组和西药组分别与模

型组比较,中药组和西药组骨组织中 RANK 的表达均下调,且中药组骨组织中 RANK 的表达下调更明显,而中药组和西药组骨组织中 OPG 表达均上调,差异有统计学意义(P<0.05);中药组和西药组与正常组比较,骨组织中 OPG 及 RANK 的表达差异无统计学意义(P>0.05);中药组与西药组比较,骨组织中 OPG 的表达差异有统计学意义(P<0.05),而 RANK 的表达差异无统计学意义(P>0.05),见表 4 及图 3。

表 4 骨组织细胞中 OPG 及 RANK 的表达情况(±s)

基因	中药组	西药组	模型组	正常组	F	P
OPG	6.26±1.11 <sup>1)2)</sup>	2.93±0.92 <sup>3)</sup>	0.55±0.72 <sup>1)</sup>	4.42±0.95	19.102	0.047
RANK	2.41±0.56 <sup>1)2)</sup>	3.96±1.00 <sup>3)</sup>	7.36±0.85 <sup>1)</sup>	4.06±0.79	23.493	0.039

注:1)3)4)与正常组比较,P<0.05;2)3)与模型组比较,P<0.05;中药组与西药组比较,P<0.05。



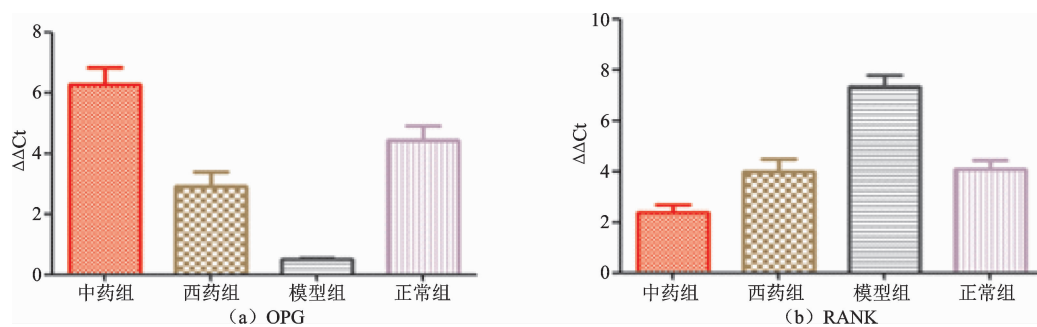


图 3 骨组织细胞中 OPG 及 RANK 的表达结果柱状图

### 3 讨论

祖国医学对于股骨头坏死的发病机制认识主要是以肝肾亏虚、筋骨不坚为主,所以治疗上当以补肝肾强筋骨为主要治疗大法。中医古文医典《素问·阴阳应象大论》曾提到“肾生骨髓”,这说明骨髓因肾气而生,肾气充足,则筋骨坚硬<sup>[12,13]</sup>。然而股骨头自身解剖结构也有着一定的差异,因此其自然修复过程也相对较缓慢,现代医学的各种治疗方式往往不能获得令人满意的临床效果<sup>[14-17]</sup>。如何应用简便而有效的预防和治疗股骨头坏死,促进其坏死区的血管修复、再生及新骨的形成是目前治疗的关键<sup>[18,19]</sup>。如果不及时预防和治疗,那么就会失去最佳的治疗时机,股骨头坏死的病程也将发展到 ARCOⅢ期甚至到了 ARCOⅣ期,然而到了后期在治疗手段上不得不进行股骨头人工髋关节置换术来缓解患者的髋关节活动障碍,但这明显增加了患者的痛苦和经济负担<sup>[20]</sup>。通过多项研究,笔者发现,对于早中期中年轻患者应该首先提倡采用中医药保头治疗的综合方案<sup>[21]</sup>。罗丹等<sup>[22]</sup>通过研究应用补气活血方治疗股骨头坏死,方由黄芪 40 g,当归 15 g,广地龙 10 g,赤芍药 15 g,川芎 15 g,延胡索 6 g,牛膝 6 g,丹参 12 g,生甘草 5 g,红花 6 g 组成,实验发现补肾活血方总有效率达 78.26%。徐复联等<sup>[23]</sup>应用由鹿角胶 10 g,当归 15 g,羌活 10 g,独活 10 g,防己 30 g,牛膝 15 g,淫羊藿 10 g,丹参 15 g,茯苓 15 g,甘草 6 g,全蝎 10 g 等中药组成的启功散治疗缺血性股骨头坏死取得了良好的疗效,通过中药促进骨骼的修复,减少细胞凋亡,调节股骨头周围的血供,达到治疗的效果。柳锦华等<sup>[24]</sup>根据具体情况辨证加减采用牛膝、土元、当归、骨碎补等八味中药治疗激素性股骨头坏死,研究结果表明使用该中药处方的患者可明显提高激素性股骨头坏死的临床疗效,缓解其临床症状,改善关节功能。骨复生是刘德玉教授通过大量的临床实践总结而来,是以补肾活血为主治疗股骨头坏死的经验方,其组方中的君药为三七和鹿角霜两味中药,共达活血化瘀、补益肝肾之功;丹参行气止痛,活血化瘀;怀牛膝补益肝肾,强壮筋骨,用此药为佐,能增强化瘀、止痛、强筋之力;方中并以黄芪补气,甘草益气和中,调和诸药,共

奏补肾、活血化瘀之效。本方立法严谨,标本兼治,正中病因病机,抓住了防治骨坏死的中心点。结合国内外最新的研究报道以及陕西中医药大学附属医院骨科创新团队的多项研究,表明中医药治疗股骨头坏死具有无创伤、无痛苦、副作用少等优点<sup>[25,26]</sup>,现已成为我国患者易接受的治疗方法。但其中医药治疗效果还是存在很大的争议,特别是多数的西医研究者不太愿接受此类治疗方案,甚至有些研究者认为中医药防治股骨头坏死没有坚实的理论基础,没有统一的治疗原则,仅有临床疗效不具有说服力。如果能利用现代医学技术加强对股骨头坏死修复机制的深入研究,那么这将会有利于新药的开发和研制,积极开发预防、治疗股骨头坏死的有效药物对于股骨头坏死患者无疑是一种福音,同时也为中医药治疗骨坏死提供研究基础。

骨保护素(OPG)广泛存在于机体组织内,如心、脑、肾、骨骼等组织细胞中,但 OPG 发挥的作用只局限于骨骼系统内,OPG 是 RANKL 的受体,可竞争性结合 RANKL,阻止 RANKL 与 RANK 结合。适量表达的 OPG 和 RANK 可以使骨代谢与免疫系统之间达到一个平衡,但过量表达的 OPG 就可以与 RANK 竞争 RANKL 的结合点,阻断 RANKL 与 RANK 相结合,并阻碍其骨的吸收,导致破骨细胞的活性被抑制<sup>[27]</sup>。因此,如何有效地将 OPG 和 RANK 调控到相对平衡的表达量,这将是中医药防治股骨头坏死的新靶点新机制。有研究就发现<sup>[28]</sup>温阳补肾方能激活 RANKL/RANK/OPG 通路,提高激素性股骨头坏死兔股骨头组织中 OPG 的表达,抑制 RANK, RANKL 的表达,从而刺激成骨细胞与破骨细胞的功能及活性。因此,本研究通过动物模型来探讨骨复生防治激素性股骨头坏死的分子机制以及对 OPG, RANK 表达的影响,为中医药防治股骨头坏死提供一定的理论基础。

本次研究的股骨头坏死动物模型是采用贺西京造模法进行改良建立早中期激素型股骨头坏死 SANFH 模型,用乙醚麻醉 SD 大鼠从眼眶下静脉丛采取治疗前后的血液进行安全性检测(肝肾功能检测),不管在造模技术上还是标本采集上均有所创新,操作安全可行,且研究发现所有实验药物(包括骨复生中药水煎液

以及阿仑膦酸钠)对实验过程中的动物以及最后的实验结果均无明显的影响,且安全有效,研究结果真实可靠,同时研究结果表明骨复生可以明显上调 OPG 的表达,下调 RANK 的表达,增加骨细胞形成、促进骨量上升、减少骨钙流失、促进骨质成熟,有效改善股骨头局部缺血缺氧环境,从而有效干预激素性股骨头坏死的形成,这为中医药防治股骨头坏死提供了一定的理论依据和新思路,但其具体治疗效果是否通过这一途径产生作用的,还需进一步的研究证实,期待有更深层次的研究。

## 参考文献

- [1] Gagala J, Tarczynska M, Gaweda K. Clinical and radiological outcomes of treatment of avascular necrosis of the femoral head using autologous osteochondral transfer (mosaicplasty): preliminary report[J]. *Int Orthop*, 2013, 37(7):1239-1244.
- [2] Signorino JA, Jayaseelan DJ, Brindle K. A typical clinical presentation of rapidly progressing femoral head avascular necrosis[J]. *J Orthop Sports Phys Ther*, 2017, 47(3): 217.
- [3] Liu L, Gao F, Sun W, et al. Investigating clinical failure of core decompression with autologous bone marrow mononuclear cells grafting for the treatment of non-traumatic osteonecrosis of the femoral head[J]. *Int Orthop*, 2018, 42(7):1575-1583.
- [4] 李泰贤, 陈志伟, 王荣田, 等. 基于文献计量学分析中医药治疗股骨头坏死的研究现状[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2017, 25(4):41-46.
- [5] Zhao L, Kaye AD, Kaye AJ, et al. Stem cell therapy for osteonecrosis of the femoral head: current trends and comprehensive review[J]. *Curr Pain Headache Rep*, 2018, 22(6):41.
- [6] Song HM, Wei YC, Li N, et al. Effects of Wenyangbushen formula on the expression of VEGF, OPG, RANK and RANKL in rabbits with steroid-induced femoral head avascular necrosis[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(6):8155-8161.
- [7] 徐西林, 胡海, 张晓峰, 等. 活骨注射液治疗股骨头坏死的扫描电镜观察[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2017, 25(2):1-5.
- [8] 袁普卫, 贺西京, 王国毓, 等. 骨复生胶囊治疗早期儿童股骨头缺血性坏死的临床观察[J]. *中国中西医结合杂志*, 2005, 25(4):330-332.
- [9] 袁普卫, 贺西京, 周海哲, 等. 骨复生胶囊对实验性激素性股骨头缺血坏死家兔 IGF-1 的影响[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2007, 15(2):40-41.
- [10] 袁普卫, 刘德玉, 贺西京, 等. 中药复方骨复生对激素性股骨头缺血坏死家兔 TNF- $\alpha$  的影响[J]. *中国骨伤*, 2004, 17(11):662-664.
- [11] 贺西京, 毛履真, 王坤正, 等. 肾上腺皮质激素引起股骨头缺血性坏死的机制实验研究[J]. *中华骨科杂志*, 1992, 12(6):440.
- [12] 董国华, 邱红明. 邱红明治疗股骨头坏死经验[J]. *湖南中医杂志*, 2017, 33(3):34-36.
- [13] 邓海军. 中医综合疗法治疗股骨头坏死的疗效分析[J]. *黑龙江中医药*, 2015, 44(6):22-23.
- [14] Caplan A, Fett N, Rosenbach M, et al. Prevention and management of glucocorticoid-induced side effects: a comprehensive review: a review of glucocorticoid pharmacology and bone health[J]. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2017, 76(1):1-9.
- [15] Hauzeur JP, Toungouz M, Lechanteur C, et al. Autologous osteoblastic cells (PREOBy) versus concentrated bone marrow implantation in osteonecrosis of the femoral head: a randomized study [J]. *Revue de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique*, 2016, 102(7):S73.
- [16] Cui L, Zhuang Q, Lin J, et al. Multicentric epidemiologic study on six thousand three hundred and ninety five cases of femoral head osteonecrosis in China[J]. *International orthopaedics*, 2016, 40(2):267-276.
- [17] Johnson AJ, Mont MA, Tsao AK, et al. Treatment of femoral head osteonecrosis in the United States: 16-year analysis of the nationwide inpatient sample[J]. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 2014, 472(2):617-623.
- [18] 康武林, 袁普卫. 股骨头坏死与骨髓间充质干细胞移植研究进展[J]. *中国矫形外科杂志*, 2013, 21(19):1954-1957.
- [19] 吉万波, 刘冠虹, 刘锦涛, 等. 股密葆方对大鼠激素性股骨头坏死血管修复影响的实验研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2014, 20(10):1148-1153.
- [20] 周李学, 李志敏, 段璋. 活血法防治早期激素性股骨头坏死的研究进展[J]. *创伤与急诊电子杂志*, 2015, 3(2):1-5.
- [21] 陆启恩. 股骨头坏死的病因分析及治疗进展[J]. *实用医技杂志*, 2014, 21(1):44-45.
- [22] 罗丹, 宋振华, 胡建庚, 等. 补气活血法治疗气虚血瘀型股骨头坏死 23 例[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2016, 14(2):74-75.
- [23] 徐复朕, 尹纪光. 启功散加减治疗早期股骨头缺血性坏死 50 例疗效观察[J]. *湖南中医杂志*, 2016, 32(11):73-74.
- [24] 柳锦华, 刘建卫. 补肾活血汤治疗中老年激素性股骨头坏死的临床效果分析[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2016, 37(33):4174-4176.
- [25] 章建华, 尹华, 林婷, 等. 芪参健骨颗粒对激素性股骨头坏死大鼠骨组织的影响[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2014, 22(1):1-4.
- [26] 陈镇秋, 何伟, 魏秋实. 股骨头坏死中医证型与血液学指标的相关性研究[J]. *中华中医药杂志*, 2013, 28(7):2205-2208.
- [27] 芮丹云, 唐丽媛, 陈洁, 等. 补肾活血颗粒对骨质疏松大鼠骨组织中 OPG/RANKL mRNA 及蛋白表达的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(24):7036-7038.
- [28] 宋红梅, 魏迎辰, 吴斌, 等. 温阳补肾方对兔激素性股骨头坏死组织 RANKL/RANK/OPG 通路的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(1):302-305.

(收稿日期:2018-08-03)