

# 补肾活血汤对骨髓间充质干细胞迁移及趋化因子受体 4, 趋化因子 13 表达的影响

钱伟宏<sup>1△</sup> 沈玮<sup>2</sup> 鲍青青<sup>1</sup> 姚志宏<sup>1</sup> 罗毅文<sup>2</sup> 陆吴超<sup>1</sup> 万小敏<sup>1</sup>

**[摘要]** 目的:探讨补肾活血汤及其拆方对骨髓间充质干细胞(BMSCs)迁移及趋化因子(CXCL)13及趋化因子受体(CXCR)4表达的影响。方法:以大鼠 BMSCs 为研究对象,制备含药血清,采用全骨髓贴壁法培养 BMSCs。通过 Transwell 实验观察补肾活血汤(全方组)及其拆方(补肾组、活血组)含药血清干预 BMSCs 体外迁移的能力,采用 PCR 法检测 CXCL13 及 CXCR4 RNA 表达水平,采用 Western Blot 法检测 CXCR4 蛋白表达水平。结果:通过培养获得高纯度的 BMSCs。Transwell 实验显示:全方含药血清干预的大鼠 BMSCs,其迁移能力显著增强,与其它 4 组对比差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。PCR 结果显示:补肾活血汤全方含药血清能显著上调大鼠 BMSCs 的 CXCL13 及 CXCR4 RNA 表达水平,与其它 4 组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。Western Blot 结果显示:补肾活血汤全方含药血清能显著上调大鼠 BMSCs 的 CXCR4 蛋白表达水平,与其它 4 组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论:全方组含药血清促 BMSCs 体外迁移的影响较显著,结合其影响 CXCL13 和 CXCR4 的表达水平,较其单纯的活血或补肾组效果更显著,其促进 BMSCs 体外迁移机制可能与同时上调 CXCL13 及 CXCR4 表达,从而激活 CXCL13/CXCR5 信号轴及 SDF-1/CXCR4 信号轴有关。合理配伍促进了补肾活血汤促 BMSCs 体外迁移的能力。

**[关键词]** 补肾活血汤;细胞迁移;骨髓间充质干细胞;趋化因子 13;趋化因子受体 4

**[中图分类号]** R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2019)03-0006-05

## Effect of Bushen Huoxue Decoction on Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Migration and CXCR4, CXCL13 Expression

QIAN Weihong<sup>1△</sup> SHEN Wei<sup>2</sup> BAO Qingqing<sup>1</sup> YAO Zhihong<sup>1</sup>  
LUO Yiwen<sup>2</sup> LU Wuchao<sup>1</sup> WAN Xiaomin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Tongxiang Chinese Medicine Hospital, Tongxiang 314500, Zhejiang China;

<sup>2</sup>Affiliated Hospital of Orthopedics & Traumatology, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510240, China.

**Abstract Objective:** To explore the effect of Bushen Huoxue Decoction(BHD)and it's separated prescription medicated on the migration of bone marrow mesenchymal stem cells(BMSCs),and expression of chemokine receptor CXCL13 and chemokine receptor CXCR4. **Methods:** BMSCs were used as the cell model, and were cultivated by bone marrow adherent method. Transwell assay was used to observe the effects of serum containing different dosages of BHD and it's separated prescription medicated on cell migration of BMSCs. The expression levels of chemokine receptor CXCL13 and chemokine receptor CXCR4 RNA were detected by PCR. The expression level of chemokine receptor CXCR4 protein was detected by Western Blot. **Results:** High purity BMSCs was obtained by culture. Transwell results showed that the whole prescription group containing serum in BHD could significantly enhance the migration ability of BMSCs in rats, and the difference was statistically significant compared with the other four groups. PCR results showed that the whole prescription group containing serum in BHD could significantly increase the level of CXCL13 and CXCR4 expression of BMSCs in rats, and the

difference was statistically significant compared with the other four groups( $P < 0.05$ ). Western blot results showed that the whole prescription group containing serum in BHD could significantly increase the level of CXCR4 protein expression of BMSCs in rats, and the difference was statistically significant compared with the other four group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The serum containing BHD could promote

基金项目:浙江省中医药管理局青年人才基金资助项目  
(2016ZQ031)

<sup>1</sup> 浙江桐乡市中医医院(浙江 桐乡, 314500)

<sup>2</sup> 广州中医药大学附属骨伤科医院

△通信作者 E-mail: qgwfnpc@126.com

BMSCs migration, and regulate the expression level of CXCL13 and CXCR4, was statistically significant compared with the separated prescription medicated groups, and its mechanism may be related to the simultaneous increase of CXCR4 expression and CXCL13 expression, thereby activating SDF-1/CXCR4 axis and CXCL13/CXCR5 axis. Rational compatibility promotes the ability of Bushen Huoxue Decoction to promote BMSCs migration

**Keywords:** Bushen Huoxue Decoction; drug-containing serum; bone marrow mesenchymal stem cells; cell migration; CXCL13; CXCR4

补肾活血汤作为临床经典的伤科方剂,主要以补肾中药和活血中药组合而成,主要功效:补肾健骨、活血化瘀、消肿止痛等。骨髓间充质干细胞(Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells, BMSCs)在一定条件下具有向成骨细胞、脂肪细胞、骨骼肌细胞、软骨细胞、神经细胞等多种体细胞分化的潜能<sup>[1]</sup>。实验室研究已证明 BMSCs 在体外能够向多种人体组织细胞分化从而修复相应组织<sup>[2,3]</sup>,在组织工程学研究, BMSCs 是较为理想的种子细胞。笔者前期临床研究已证实补肾活血汤具有缩短骨折愈合时间,消肿止痛等作用<sup>[4]</sup>,实验研究也已证实了补肾活血汤具有促进 BMSCs 增殖、成骨分化及迁移的能力<sup>[5-8]</sup>。骨折愈合过程中内源性 BMSCs 具有向骨折端迁移及聚集的现象并成骨分化从而修复骨组织<sup>[9]</sup>,前期研究显示补肾活血汤促进骨折愈合机制之一可能与其通过上调 CXCR4 表达,激活 SDF-1/CXCR4 信号轴,从而促进 BMSCs 向骨折端迁移实现<sup>[6,7]</sup>。补肾活血汤作为一个复方汤剂,其可明确地拆分成补肾中药组及活血中药组,为临床筛选更合适的治疗方法,故笔者猜测补肾活血汤全方是否因其合理配伍而明显增大其促 BMSCs 体外迁移的能力,较单一补肾中药或活血中药效果更明显。趋化因子 CXCL13 仅表达于成骨前体细胞,其特异性受体为 CXCR5,研究发现<sup>[10,11]</sup>间充质干细胞表面存在 CXCR5,并通过 Boyden 小室法证实 CXCL13 对 BMSCs 具有较好的定向趋化作用。因而,笔者猜测补肾活血汤及其拆方促进 BMSCs 体外迁移的机制:第一,可能与 CXCL13 表达及 CXCL13/CXCR5 信号轴激活有关;第二,可能同时激活多条信号轴来促进 BMSCs 体外迁移。因此,本研究通过补肾活血汤及其拆方含药血清干预 BMSCs 迁移的影响,判断全方及其拆方之间功效差别,为进一步的全方有效成分研究提供方向。初步探讨补肾活血汤含药血清促 BMSCs 体外迁移机制与 CXCL13/CXCR5 信号轴的相关性,为下一步研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

选用 SPF 级 SD 大鼠 20 只,体质量约 250 g,3 月龄,雄性,用于制备含药血清。选用 SPF 级 SD 大鼠 16 只,体质量 80~90 g,4 周龄,雌雄不限,用于提取

BMSCs。广州中医药大学实验动物中心提供大鼠,许可证号为 SCXK(粤)2013-0020,动物处置均符合动物伦理。

### 1.2 实验药物

将补肾活血汤及其拆方分成全方组(杜仲 6 g,没药 6 g,补骨脂 18 g,菟丝子 18 g,枸杞子 6 g,山萸肉 6 g,当归尾 30 g,红花 3 g,独活 6 g,熟地 18 g,肉苁蓉 6 g),活血组(当归尾 30 g,没药 6 g,红花 3 g)与补肾组(熟地 18 g,杜仲 6 g,枸杞子 6 g,补骨脂 18 g,菟丝子 18 g,山萸肉 6 g,肉苁蓉 6 g),中药材由桐乡市中医医院中药房提供,将中药按组分别按传统方法煎煮,浓缩后 4℃下保存备用。

### 1.3 主要试剂与仪器

吉姆萨染液(广州瑞舒公司);CXCR4 多克隆抗体,山羊抗兔二抗(北京博奥森公司);DMEM 低糖培养基,2.5 g/L 胰蛋白酶(美国 Gibco 公司),胎牛血清(FBS);Trizol 试剂(Invitrogen 公司);RNA 提取试剂盒(zymo);Mx3000P Real Time PCR 扩增仪(Stratagene 公司);CKX31 型倒置显微镜(日本 Olympus 公司);PrimeScript™ RT-PCR 试剂盒,SYBR Premix Ex Taq™ 试剂盒(Takara 公司);SCW-HS-840 型超净工作台(长春电子仪器);B16UU CO<sub>2</sub> 培养箱(德国 Heraeus 公司);Transwell 24 孔板(美国 Corning 公司)。

### 1.4 方法

**1.4.1 补肾活血汤及其拆方含药血清制备** 取 20 只 3 月龄雄性 SPF 级 SD 大鼠随机分为补肾活血汤全方组、补肾组、活血组、空白血清组,每组 5 只,分别灌胃用以制备各组含药血清。给予各组中药及蒸馏水灌胃,以“人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值表”计算有效剂量示:补肾活血汤组为 8.918 g/kg,补肾组为 7.02 g/kg,活血组为 1.71 g/kg,空白血清组给予蒸馏水 10 g/kg 灌胃。每天 1 次,连续灌胃 7 d。各组大鼠于最后 1 次灌胃后 1 h 行腹主动脉采血。血液室温静置 3 h 待离心,以 3 000 r/min 转速离心 10 min,取上层血清,每组收集。水浴灭活 30 min(56℃),经 0.22 μm 滤膜以除菌,最后分装保存(-20℃)。普通血清组是 Gibco 公司的胎牛血清。

**1.4.2 BMSCs 的分离及培养** 大鼠颈椎脱臼处死,消毒铺巾,获得股骨与胫骨,并在超净台去除股骨与胫

骨周围的软组织,剪断双侧干骺端,置于含双抗的 DMEM 培养基,用注射器吸无血清 DMEM 培养基冲洗骨髓腔;收集冲洗液,1 000 r/min,离心 8 min,弃上清液;再用每瓶 4 mL 完全培养基混匀沉淀,接种于培养瓶;条件设置为 37 ℃,5% CO<sub>2</sub>,95% 空气,饱和湿度,培养箱中培养。经过 24 h 进行第一次换液,接下来 2 d 换一次液,将融合生长的细胞用 2.5 g/L 胰蛋白酶消化传代,通过观察标记每一代细胞,依次为 P1, P2 及 P3, P3 用于实验。

**1.4.3 Transwell 实验** 首先将 P2 代 BMSCs,用 DMEM 低糖培养基吹打,并种板,选择 6 孔板,每孔 2 mL,常规培养,12 h 后饥饿处理细胞 10 h。配制全方组、活血组、补肾组、空白组及普通血清组的 10% 含药血清,分别用于培养饥饿处理 10 h 的细胞,每孔 2 mL,依次标记为全方组、补肾组、活血组、空白血清组及普通血清组,继续培养。待 24 h 后依次进行消化收集每组细胞,加入无血清 DMEM 培养基培养,细胞密度达到  $1 \times 10^5$  /mL。Transwell 小室有上下两室,上下室分别加入 200  $\mu$ L 细胞悬液和 500  $\mu$ L 培养基(体积分数为 20%),每组 3 孔。12 h 后取出 Transwell 小室,弃去其中培养基,擦去上层未迁移的细胞,利用 PBS 洗 2 遍,4% 多聚甲醛固定 20 min,同法洗 2 遍;吉姆萨染液染色 30 min,同法再洗 2 遍;倒置显微镜下(400 倍),5 个视野被随机选择用于研究并记录细胞数目(视野边界不完整的细胞超过一半体积的记数,小于一半的不记数,聚集在一起的细胞团记为一个细胞)。

**1.4.4 Real-Time PCR 检测 CXCL13 和 CXCR4 mRNA 表达** 取 P2 代生长旺盛的骨髓间充质干细胞,消化收集,均匀种于 6 孔板,待 12 h 细胞贴壁后用无血清 DMEM 饥饿细胞 12 h,随后各组加入补肾活血全方组、补肾组、活血组、空白血清组及普通血清组干预 24 h,用 Tizol 消化细胞,用 RNA 提取试剂盒

(takara)提取细胞总 mRNA,采用反转录试剂盒将 mRNA 反转录为 cDNA,遵循 PCR 引物设计原则,根据大鼠基因 cDNA 序列,设计引物(由上海生物工程有限公司合成),进行 Real-Time PCR 反应,读取 Ct 值,参照比较阈值法计算目的基因相对表达量(以 GAPDH 为内参)<sup>[12]</sup>。

**1.4.5 Western Blot 法检测 CXCR4 蛋白表达** 补肾活血汤全方组、补肾组、活血组、空白血清组及普通血清组的体积分数 10% 含药血清培养已接种于孔板的 P3 代 BMSCs 48 h,通过裂解细胞完成总蛋白提取,添加 5 倍 SDS,100 ℃ 煮沸 5 min 后储存。吸取样品,进行浓缩胶电泳,取下凝胶转膜。将膜室温封闭 1 h;将膜取出,放入 GAPDH 和 CXCR4 一抗,4 ℃ 反应过夜;利用 PBST 洗膜,5 min  $\times$  4 次;将膜转入二抗中,室温反应 1 h;再次 PBST 洗膜,用 ECL 显影。结果使用 Image J 图像处理软件进行分析,以 CXCR4/GAPDH 比值( $p$ )表示 CXCR4 蛋白水平。

## 1.5 统计学方法

使用 SPSS 19.0 软件进行数据分析,数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示,各组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA), $P < 0.05$  差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 骨髓间充质干细胞的形态观察

原代培养中,细胞形态多呈圆形,胞体大小不一,细胞核难以辨认,并悬浮在培养液中(见图 1)。第 7 天开始贴壁细胞增多,细胞呈集落样生长,有的呈短梭形,相互融合,细胞形态多呈扁平或呈梭形(见图 2)。细胞集合成片,可呈鱼群形,贴壁细胞铺满瓶底率达 90% 时,可以满足首次传代要求。传代培养至 P3 代细胞融合程度达到 80% 以上,大部分细胞呈长梭形,细胞生长较均匀,多呈旋涡状。细胞得到纯化,细胞形态最后形成多边形或三角形, P3 代细胞形态可见(见图 3)。

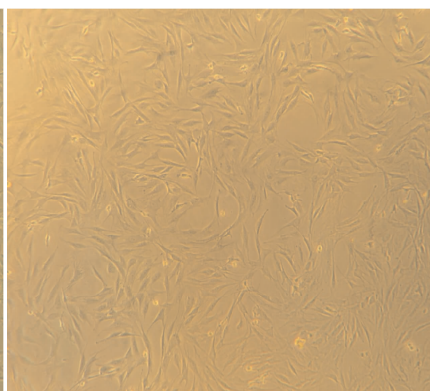
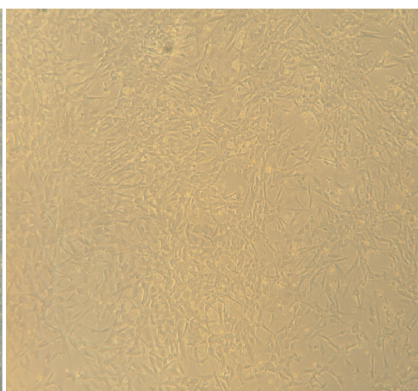
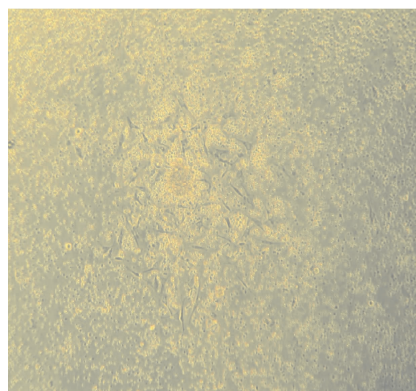


图 1 原代 BMSCs 培养 24 h 后(100 $\times$ )

图 2 原代 BMSCs 培养 7 d 后(100 $\times$ )

图 3 P3 骨髓间充质干细胞(100 $\times$ )

### 2.2 补肾活血汤含药血清增强 BMSCs 的迁移能力

通过 Transwell 实验检测全方组、活血组、补肾组、空白血清组及普通血清组含药血清影响大鼠

BMSCs 体外迁移的能力(见图 4 和图 5):全方组与活血组、补肾组、空白血清组及普通血清组比较,全方组穿过小室的细胞数显著增多,差异有统计学意义( $P <$



0.05),提示补肾活血汤全方含药血清可明显促进 BMSCs 的迁移。

2.3 各组含药血清对 BMSCs 细胞中 CXCR4 和 CXCL13 mRNA表达水平的影响

补肾活血汤全方组、补肾组、活血组、空白血清组及普通血清组含药血清干预 BMSCs 细胞 48 h 后提取 mRNA,PCR 法检测 CXCR4 和 CXCL13 的 mRNA 的表达。图 6 和图 7 结果显示:补肾活血汤全方组、补肾组及活血组均可促进 CXCR4 和 CXCL13 基因表达,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),且全方组效果较明显,与 Transwell 实验结果相吻合。

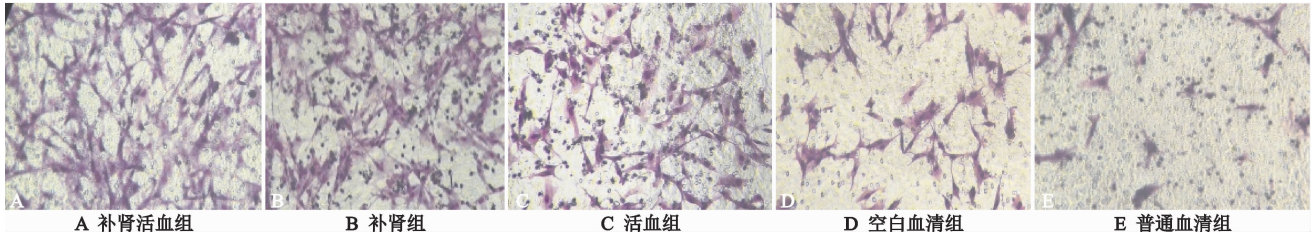


图 5 各组 BMSCs 细胞迁移数目比较(400×)

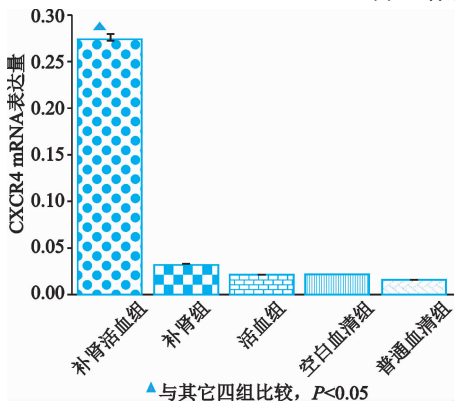


图 6 各组对 BMSCs 的 CXCR4 mRNA 表达的影响

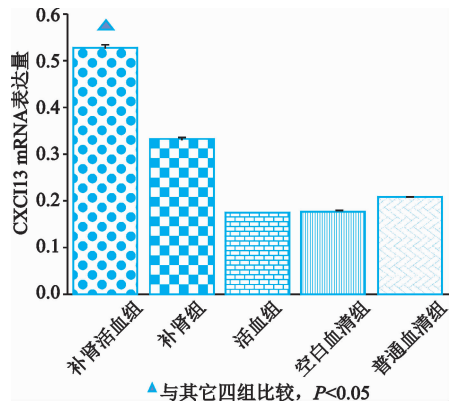


图 7 各组对 BMSCs 的 CXCL13 mRNA 表达的影响

2.4 各组含药血清对 BMSCs 细胞中 CXCR4 蛋白表达水平的影响

补肾活血汤全方组、补肾组、活血组、空白血清组及普通血清组含药血清培养 BMSCs 48 h,进行总蛋白提取,Western Blot 法检测 CXCR4 蛋白表达量,以 GAPDH 为标准对照。图 8 和图 9 显示:全方组可显著促进 CXCR4 蛋白表达,且较活血组、补肾组、空白

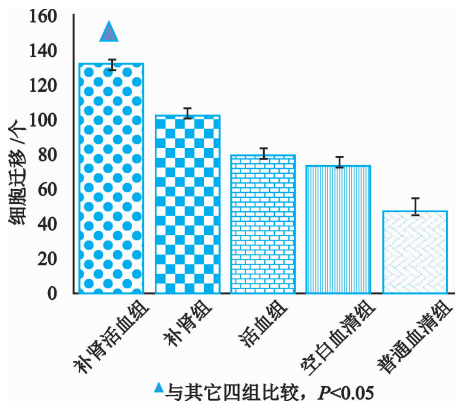


图 4 各组对 BMSCs 的细胞迁移的影响

血清组及普通血清组作用差异有统计学意义( $P<0.05$ ),并与 Transwell 实验结果相符合。

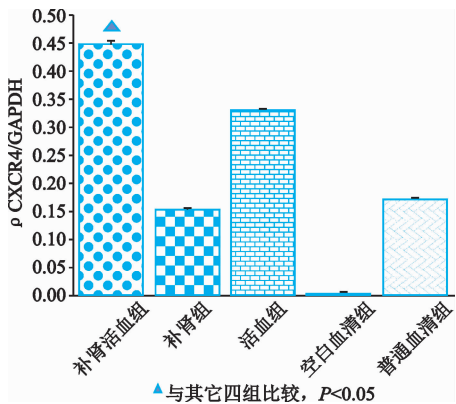


图 8 各组对 BMSCs 的 CXCR4 蛋白表达的影响

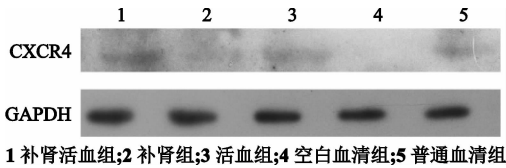


图 9 各组 CXCR4 蛋白表达凝胶电泳图

3 讨论

中医理论认为骨折愈合的过程概括为“瘀去、新生、骨合”,《黄帝内经》有云“肾主藏精,主骨生髓”,故而治疗骨折<sup>[13]</sup>原则为“以补肾为基础,活血是关键”。活血法、补肾法及补肾活血法是治疗骨折相关疾病的常用中医治疗方法,文献研究<sup>[14]</sup>发现针对单纯补肾中药、活血中药及补肾活血复方基础研究较为深入,而补肾、活血及补肾活血三法对 BMSCs 体外迁移能力影响的横向比较的基础研究较为少见。因此笔者选用临床常用方剂补肾活血汤,并对其拆成活血组(当归尾、没药、红花)与补肾组(熟地、杜仲、枸杞子、补骨脂、菟

丝子、山萸肉、肉苁蓉)。补肾活血汤出自《伤科大成》，主要药物组成为山萸肉、熟地黄、枸杞子、补骨脂、杜仲、菟丝子、肉苁蓉、没药、当归、红花，主要功效为补肾强精壮骨，活血通络止痛。临床研究<sup>[4,15,16]</sup>表明补肾活血汤具有促进骨折愈合的作用，如缩短骨折愈合时间，缓解疼痛及促进关节功能康复等临床疗效。实验研究<sup>[6-8]</sup>证实补肾活血汤可促进 BMSCs 增殖、成骨分化及体外迁移，在对 BMSCs 体外迁移实验研究中同时发现药物作用与上调了 CXCR4 蛋白的表达，激活 SDF-F/CXCR4 信号轴有关。

趋化因子是一种可促使细胞发生趋化运动的细胞因子，其相对分子量较小，主要为 4 个亚族：C，CC，CXC 及 CX3C。本研究涉及的亚族主要为 CXC 类趋化因子及受体(CXCL13 和 CXCR4)，目前已发现有 7 个趋化因子受体(CXCR1-CXCR7)，CXCR4 是 CXCL12 (即 SDF-F)唯一的特异性受体，目前的实验研究<sup>[17,18]</sup>已证实 SDF-1 及其受体 CXCR4 能促进 BMSCs 迁移，并向需要修复的组织部位归巢。另有研究表明<sup>[19]</sup>，在上调 BMSCs 修复作用过程中，CXCL13 是一种重要的分子信号，体外趋化实验表明 CXCL13 对骨膜间质细胞具有趋化作用。CXCL13 与相应受体 CXCR5 为 BMSCs 强表达受体之一，是调节 BMSCs 归巢的重要趋化因子<sup>[20]</sup>。易诚青等<sup>[21]</sup>研究表明 CXCL13 和 CXCR5 与骨缺损成骨微环境的构成及调控有着密切联系。因此，笔者推测 CXCR4/SDF-F 轴与 CXCR5/CXCL13 轴在 BMSCs 的迁移过程中均起着关键的作用，是骨折愈合过程中两条不可或缺的细胞生物信号轴。

有研究者<sup>[21]</sup>发现 CXCL13 与骨缺损成骨微环境的构成及调控有着密切联系，CXCL13 对 BMSCs 具有良好的趋化效应，可诱导 BMSCs 向损伤部位迁移，募集 BMSCs 与重建成骨微环境，建立以 BMSCs 为“趋化核心”的成骨活动<sup>[10,22]</sup>。本研究发现补肾活血汤全方组及其拆方(补肾组、活血组)对 BMSCs 体外迁移的影响，Transwell 细胞迁移实验显示：全方组含药血清可显著增加大鼠 BMSCs 的迁移数目，且较单纯的补肾组、活血组、空白血清组及普通血清组效果更明显，差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。经全方组含药血清干预后的大鼠 BMSCs 的 CXCR4 及 CXCL13 表达结果与其它四组血清比较，RNA 及蛋白表达量均显著上调，差异有统计学意义( $P < 0.05$ )，其与 Transwell 实验结果相符合。全方组含药血清影响大鼠 BMSCs 体外迁移的机制可能与同时上调了 CXCR4 及 CXCL13 的表达，并激活 CXCL13/CXCR5 信号轴及 SDF-1/CXCR4 信号轴有关，较单纯补肾或活血效果更显著，差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。此结果与临床上应用复方疗效更显著的经验相吻合，说明合理的配伍可增加临床疗效。

综上所述，补肾活血汤全方含药血清通过同时上调 CXCR4 及 CXCL13 表达促进大鼠 BMSCs 的体外迁移，且较单纯补肾组、活血组及空白组作用更显著，其机制可能与同时刺激 SDF-1/CXCR4 信号轴及 CXCL13/CXCR5 信号轴有关，也首次发现了补肾活血汤含药血清促 BMSCs 的体外迁移与上调 CXCL13 表达有关。根据补肾活血方及其拆方含药血清对 BMSCs 的体外迁移能力影响的实验结果分析，笔者推测合理的配伍使补肾活血汤全方效果更明显。补肾活血全方较拆方是否因其配伍而产生新的有效成分或仅是补肾与活血药效的叠加等具体问题有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] PITTENGER M F, MACKAY A M, BECK S C, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells[J]. Science, 1999, 284(5411): 143-147.
- [2] 杨丽, 朱晓峰, 张荣华. 补肾活血复方含药血清对 MSCs 增殖和骨向分化影响的时效及量效研究[J]. 中药材, 2012, 35(2): 259-262.
- [3] GOLPANIAN S, EL-KHORAZATY J, MENDIZABAL A, et al. Effect of aging on human mesenchymal stem cell therapy in ischemic cardiomyopathy patients[J]. J Am Coll Cardiol, 2015, 65(2): 125-132.
- [4] 鲍青青, 钱伟宏, 姚志宏. 补肾活血汤治疗老年肱骨近端骨折的临床观察[J]. 浙江临床医学, 2018, 20(8): 1430-1431.
- [5] ITO H. Chemokines in mesenchymal stem cell therapy for bone repair: a novel concept of recruiting mesenchymal stem cells and the possible cell source[J]. Mod Rheumatol, 2011, 21(2): 113-121.
- [6] 熊云谱, 王斌, 刘亚梅, 等. 补肾活血汤含药血清对骨髓间充质干细胞迁移及 CXCR4 表达的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2017, 34(1): 76-79.
- [7] 罗毅文, 王斌, 吴志方, 等. 补肾活血汤提取物促进骨髓间充质干细胞体外迁移及 CXCR4 表达的研究[J]. 中药新药与临床药理, 2016, 27(3): 357-359.
- [8] 刘亚梅, 王斌, 罗毅文, 等. 补肾活血汤调控大鼠骨髓间充质干细胞增殖活性的实验研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2015, 23(3): 1-4.
- [9] 郭启发, 李光, 任荣, 等. 骨髓间充质干细胞对创伤性骨折愈合的促进作用[J]. 中国组织工程研究, 2016, 45(3): 130-134.
- [10] LUTTICHAU IV, NOTOHAMIPRODJO M, WECHSELBERGER A, et al. Human adult CD34-progenitor cells functionally express the chemokine receptors CCR1, CCR4, CCR7, CXCR5, and CCR10 but not CXCR4[J]. Stem Cells Dev, 2005, 14(3): 329-336.
- [11] 易诚青, 姚爱华, 马春辉, 等. 装载趋化因子 CXCL13 的中空羟基磷灰石微球对间充质干细胞的趋化效应研究[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2012, 32(12): 1532-1534.

敏度和信效度,且简便高效,是对疼痛程度的一种主观感受,临床亦广泛应用。三个临床疗效指标易统计、简便高效,且具有较高的可信度,能够很好地反映临床疗效。

通过临床疗效观察,骨盆矫正法对改善腰突症患者的疼痛及骨盆倾斜具有良好疗效,值得临床推广应用。

## 参考文献

- [1] 尹帅子,梁啸宇,叶雨文,等.罗华送治疗“腰-盆-髌”力学失衡型腰椎间盘突出症的经验[J].中国中医急症,2018,27(4):715-717.
  - [2] MARTINS D E,ASTUR N,KANAS M,et al. Quality assessment of systematic reviews for surgical treatment of low back pain:an overview[J]. Spine J,2016,16(5):667-675.
  - [3] 国家中医药管理局.中医病症诊断疗效标准[S].南京:南京大学出版社,1994.
  - [4] 胡有谷.腰椎间盘突出症[M].3版.北京:人民卫生出版社,2004.
  - [5] 王之虹,于天源.推拿学[M].北京:中国中医药出版社,2012.
  - [6] 翁文水,沈国权.推拿治疗腰椎间盘突出症的机理探讨——多源性卡压学说[J].按摩与导引,2008,24(9):15-16.
  - [7] 冯伟,冯天有,许奎,等.新医正骨疗法治疗Ⅲ、Ⅳ型腰椎间盘突出症[J].中医正骨,2015,27(5):62-64.
  - [8] 冯宇,高燕,冯天有.矫形鞋辅助手法治疗腰椎间盘突出症的临床研究[J].中国骨伤,2012,25(1):28-31.
  - [9] 彭静,王小伟,孙冬梅,等.核心稳定性训练的研究进展[J].中国康复理论与实践,2014,24(7):629-633.
  - [10] 唐陶富.X线检查与诊断技术[M].北京:人民卫生出版社,2014.
  - [11] 陈博,詹红生,石印玉,等.腰背痛的致病机理及中医学对腰背痛的认知[J].中国中医骨伤科杂志,2010,18(6):62-64.
  - [12] 王立童,詹红生.以“筋出槽,骨错缝”理论探讨颈椎病的手法治疗[J].中国运动医学杂志,2009,28(6):703-705.
  - [13] 元唯安,张明才,詹红生.对“骨错缝、筋出槽”的认识及临床诊断[J].中国骨伤,2013,26(6):502-504.
  - [14] 程艳彬,房敏,王广东,等.以“筋骨失衡,以筋为先”探讨脊柱退化性疾病的推拿治疗[J].中华中医药杂志,2015,30(10):3470-3473.
  - [15] 张琴明,朱清广.推拿治疗腰椎间盘突出症的机理研究进展[J].颈腰痛杂志,2007,28(4):335-336.
  - [16] 朱清广,房敏,沈国权,等.推拿治疗骶髂关节紊乱生物力学效应[J].颈腰痛杂志,2009,30(2):163-166.
  - [17] 冯天有.中西医结合治疗软组织损伤的临床研究[M].北京:中国科学技术出版社,2002.
  - [18] 周楠,房敏,朱清广,等.推拿手法治疗腰椎间盘突出症腰背伸肌群生物力学特性评价研究[J].中华中医药杂志,2012,27(3):562-566.
- (收稿日期:2018-08-02)
- 
- (上接第10页)
- [12] 付纳新,马超,孙劲,等.臭氧联合关节镜对膝关节骨关节炎滑膜 IL1RI、CXCL13 与 IL24 的影响[J].实用医学杂志,2017,33(18):3055-3058.
  - [13] 王羿,党兴.补肾活血法对 SD 大鼠骨折模型愈合影响的实验研究[J].时珍国医国药,2012,23(12):3150-3151.
  - [14] 陆吴超,钱伟宏,姚志宏,等.补肾、活血中药及补肾活血复方对骨髓间充质干细胞增殖、定向迁移及成骨分化的影响及作用机制的研究进展[J].中医正骨,2018,30(7):36-37.
  - [15] 黄永铨,罗毅文,王斌,等.补肾活血汤治疗老年桡骨远端骨折的临床疗效观察[J].中国中医骨伤科杂志,2015,23(3):5-8.
  - [16] 程英雄,罗毅文,王斌,等.补肾活血汤治疗老年肱骨近端骨折围手术期的应用研究[J].中国中医骨伤科杂志,2016,24(10):16-19.
  - [17] GONG J,MENG HB,HUA J,et al. The SDF-1/CXCR4 axis regulates migration of transplanted bone marrow mesenchymal stem cells towards the pancreas in rats with acute pancreatitis[J]. Mol Med Rep,2014,9(5):1575-1582.
  - [18] GHADGE S K,MUHLSTEDT S,OZCELIK C,et al. SDF-1alpha as a therapeutic stem cell homing factor in myocardial infarction[J]. Pharmacol Ther,2011,129(1):97-108.
  - [19] LISIGOLI G,TONEGUZZI S,GRASSI F,et al. Different chemokine are expressed in human arthritis bone biopsies: IFN-γ and IL-6 differently modulate IL-8, MCP-1 and RANTES production by arthritis osteoblasts[J]. Cytokine,2002,20(5):231-238.
  - [20] SIMTH H,WHITTALL C,WEKSLER B,et al. Chemokines stimulate bidirectional of human mesenchymal stem cells across bone marrow endothelial cells[J]. Stem Cells Dev,2012,21(3):476-486.
  - [21] 易诚青,马春辉,张国桥,等. CXCL13 和 CXCR5 在骨缺损成骨微环境中的表达特征[J].上海交通大学学报:医学版,2012,32(12):1536-1539.
  - [22] 李新建,齐振熙,李志敏,等.补肾活血汤含药血清骨髓间充质干细胞成骨-成脂分化的影响[J].中华中医药杂志,2016,24(8):3274-3277.
- (收稿日期:2018-09-05)