

# 盘龙七片对小鼠骨折愈合过程中血管生成的影响

刘哲<sup>1△</sup> 阿良<sup>1</sup> 张勇<sup>1</sup> 季英楠<sup>1</sup> 孟建国<sup>2</sup>

**[摘要]** **目的:**探讨盘龙七片对小鼠骨折愈合中血管生成的影响。**方法:**采用 45 只 C57BL/6 小鼠制备髓内针固定小鼠闭合性股骨骨折模型,随机分为 3 组(对照组、低剂量组和高剂量组)。于造模第 2 天开始灌胃给药盘龙七片,对照组给予等量生理盐水灌胃,高剂量组和低剂量组分别按照盘龙七片高剂量(1.28 g/kg)及低剂量(0.25 g/kg)灌胃给药,2 次/d,连续 4 周。在给药 3 周后,采用颈椎脱臼方法处死动物,收集损伤股骨制备骨组织切片,行苏木精-伊红(HE)染色检测造模骨折愈合情况;在给药后第 1,2,3,4 周后取受损骨组织,收集总蛋白,利用 Western Blot 实验检测其中促血管生成因子血管生成素-1(Ang-1)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、血管内皮生长因子(VEGF)和血小板-内皮细胞黏附分子(CD31)的蛋白表达量。利用盘龙七片处理人脐静脉内皮血管细胞(HUVEC),行体外小管形成实验、Transwell 侵袭实验检测盘龙七片对小管形成及 HUVEC 侵袭能力的影响。**结果:**HE 染色显示高剂量组盘龙七片处理 3 周后,骨痂区域充满大量的类骨质,骨折愈合情况显著高于低剂量组及对照组。Western Blot 结果表明,高剂量组和低剂量组盘龙七片均可不同程度促进 Ang-1、bFGF、VEGF 和 CD31 的蛋白表达,且高剂量组中 Ang-1、bFGF、VEGF 和 CD31 蛋白表达量显著高于低剂量组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。高剂量组和低剂量组盘龙七片均可促进 HUVEC 小管形成和提高其侵袭能力,且高剂量组盘龙七片可更有效地加速血管形成和细胞侵袭,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论:**盘龙七片可促进骨折部位血管生成因子的表达,加速 HUVEC 小管形成和提高其侵袭能力,且高剂量的促进作用更加明显。

**[关键词]** 盘龙七片;骨折愈合;血管生成;人脐静脉内皮血管细胞

**[中图分类号]** R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]**1005-0205(2023)01-0013-06

## Efficacy of Panlongqi Tablet on Angiogenesis during Bone Fracture Healing in Mice

LIU Zhe<sup>1△</sup> A Liang<sup>1</sup> ZHANG Yong<sup>1</sup> JI Yingnan<sup>1</sup> MENG Jianguo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Second Department of Orthopaedics, Central Hospital Affiliated to Shenyang Medical College, Shenyang 110024, China;

<sup>2</sup> Shaanxi Panlong Pharmaceutical Group Co. Ltd., Xi'an 710065, China.

**Abstract Objective:** To explore the efficacy of Panlongqi tablet on angiogenesis during fracture healing in mice. **Methods:** 45 SD mice were used to establish a femoral fracture model and were randomly divided into three groups: control group, low-dose group and high-dose group. Panlongqi tablets were administered by gavage on the second day of surgery. Control group was given intragastric saline. The high-dose group and the low-dose group were administered intragastrically according to the high dose (1.28 g/kg body weight) and low dose (0.25 g/kg body weight) of Panlongqi tablets. All groups were treated twice a day for 4 consecutive weeks. After 3 weeks of administration, the animals were sacrificed by cervical dislocation, and the fractured femurs were collected to prepare bone tissue sections. Hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to detect the healing of the model fracture. Fractured bone tissue was collected after 1, 2, 3, and 4 weeks of administration. Total protein was collected. Western Blot experiments were used to detect the protein expressions of angio-

genesis factors Angiopoietin-1 (Ang-1), basic fibroblast growth factor (bFGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) and platelet-endothelial cell adhesion molecule (CD31) in callus. The human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) was treated by Panlongqi tablet, and the efficacy

基金项目:盘龙七片上市再评价研究(2020ZDLSF03-10)

<sup>1</sup> 沈阳医学院附属中心医院骨二科(沈阳 110024)

<sup>2</sup> 陕西盘龙药业集团股份有限公司

<sup>△</sup>通信作者 E-mail:zheliu\_drl@163.com

of Panlongqi tablet on tubule formation and invasion ability of HUVEC detected by in vitro tubule formation test and Transwell invasion test. **Results:** HE staining showed that callus area filled with plenty of osteoid bone in high-dose group 3 weeks after modeling, and the fracture healing in the high-dose group was better than those in the low-dose group and control group. The results of Western Blot showed that Panlongqi tablet in high-dose group and low-dose group can promote the protein expressions of Ang-1, bFGF, VEGF and CD31, and the expression levels of Ang-1, bFGF, VEGF and CD31 in the callus of high-dose group were relatively higher than that in low-dose group. Panlongqi tablets in high-dose group and low-dose group can promote the tubule formation and migration of HUVEC, and Panlongqi tablets in high-dose group can more effectively accelerate blood vessel remodeling and cell migration. **Conclusion:** Panlongqi tablets can promote the expression of angiogenesis factors at the fracture site, accelerate the tubule formation and migration ability of HUVEC, and the acceleration of high-dose is more obvious.

**Keywords:** Panlongqi tablet; fracture healing; angiogenesis; human umbilical vein endothelial cell (HUVEC)

骨折愈合需要足够稳定和充分的血液供应,骨折后长骨的血供严重受损,骨折局部处于低氧状态<sup>[1-3]</sup>。骨折断端的愈合及速度取决于周围血管的新生能力,血管生成因子、细胞因子等参与的血管生成能促进骨代谢,最终促进骨折愈合修复<sup>[4-7]</sup>。盘龙七片是治疗外伤性骨折的纯中药制剂,具有活血化瘀、祛风除湿、消肿止痛等功效<sup>[8]</sup>。目前,已有临床观察探讨盘龙七片对骨折愈合的影响,但其具体作用机制仍有待探讨。本研究通过不同剂量盘龙七片处理髓内针固定闭合性股骨骨折小鼠模型及人脐静脉内皮血管细胞(HUVEC),检测盘龙七片对血管生成相关因子及细胞侵袭、体外小管形成的影响,探讨盘龙七片对骨折愈合中血管生成的影响,为其用于骨折治疗的临床应用提供理论支持。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物与细胞

SPF级C57BL/6小鼠45只,雄性,体重为18~25 g,中位数20 g,采购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,动物合格证号为SCXK(京)2019-0010。人脐静脉内皮血管细胞购自美国ATCC(批号为PCS-100-013)。

### 1.2 实验药物及试剂

胎牛血清(批号为12238C)和DMEM(批号为D0819)购自美国Sigma公司;Ang-1兔单抗(批号为ab183701)、VEGF兔单抗(批号为ab150375)、CD31兔单抗(批号为ab28364)、bFGF兔单抗(批号为ab208687)、GAPDH兔单抗(批号为ab8245)和辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG(批号为ab288151)购自英国Abcam公司;BCA试剂盒(批号为P0010S)购自碧云天生物技术公司;盘龙七片购自陕西盘龙药业集团股份有限公司(国药准字Z61020050)。

### 1.3 实验仪器

凝胶成像系统和Western Blot基础电泳仪购自美国Bio-Rad公司;Nikon倒置相差显微镜购自日本Nikon公司。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 髓内针固定小鼠闭合性股骨骨折模型的建立

各组小鼠腹腔内注射2%水合氯醛(0.2 mL/10 g)进行麻醉,夹尾无反应后,剔除膝关节周围毛发,75%酒精消毒膝关节周围的皮肤组织,切开膝关节皮肤0.5~1.0 cm,暴露髌腱,通过髌腱将1根25G的注射针头插入股骨髓腔。使用Einhorn设备,通过3点弯曲法,制造股骨中段骨折,术后第1天对所有小鼠拍摄X线片确定骨折及其程度,X线检查使用机器为Faxitron LX60。照射条件为40 kV,曝光4 s。照射时小鼠采取仰卧位,右下肢外展。手法复位后用夹板和温水浸泡石膏绷带外固定,自由活动。

**1.4.2 干预方法和分组** 造模后第2天开始分组灌胃给药盘龙七片,2次/d,连续4周。小鼠分为对照组、低剂量组和高剂量组,每组15只。高剂量组按照1.28 g/kg给药,低剂量组按照0.25 g/kg给药,分别为临床成人剂量的10倍和2倍;对照组给予等量生理盐水灌胃。

**1.4.3 组织收集** 给药后第1,2,3,4周,收集受损骨组织,每个时间点每组各收集3只小鼠。采用颈椎脱臼方法处死小鼠,剥除骨骼外侧软组织取胫骨中段骨髓组织后,于冰浴剪碎后加入RIPA裂解液,用匀浆器匀浆破碎,置于冰上裂解30 min后12 000 r/min离心20 min。取上清分装,BCA试剂盒测定蛋白含量,用于免疫印迹法(Western Blot)检测。另外,给药后第3周,于骨折断端两边各延伸0.5 cm收集骨组织,4%多聚甲醛固定24 h后,用10% EDTA脱钙液脱钙4周。脱钙完成的骨组织石蜡包埋并制备骨组织切片(每组3只小鼠)。

**1.4.4 细胞培养及处理** 将HUVEC置于37℃、5% CO<sub>2</sub>环境下培养,培养基使用含10%胎牛血清的DMEM完全培养基。取对数生长期的细胞,胰酶消化制备单细胞悬液,以6×10<sup>5</sup>个/孔加入12孔板,待细胞贴壁后进行分组处理,细胞分为空白对照组、低剂量

组、高剂量组、阳性对照组(小管形成实验)。盘龙七片用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基进行溶解。对照组用含 10% 胎牛血清的 DMEM 完全培养基培养 24 h,低剂量组和高剂量组分别使用含 10  $\mu$ g/mL(低剂量)和 50  $\mu$ g/mL(高剂量)盘龙七片的完全培养基培养 24 h,阳性对照组使用含 20 ng/mL VEGF 的完全培养基培养 24 h。处理完成后,弃培养基,每孔加入 100  $\mu$ L RIPA 裂解液,同 1.4.3 节步骤提取总蛋白用于 Western Blot 法检测。

1.5 实验室指标检测

1.5.1 Western Blot 法检测 取 40  $\mu$ g 蛋白于聚丙烯酰胺凝胶电泳中分离且转移到硝酸纤维素膜上,5% 脱脂奶粉溶液室温封闭膜 2 h。一抗稀释液 Angiopoietin-1(Ang-1,1:600)、VEGF(1:800)、CD31(1:500)、bFGF(1:800)和 GAPDH(1:1 000)孵育膜,4  $^{\circ}$ C 孵育过夜。次日用辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 室温孵育 1 h,ECL 发光液处理后,利用凝胶成像系统观察结果。GAPDH 为内参对照蛋白。

1.5.2 小管形成测定 Matrigel 基质胶涂抹 24 孔板,37  $^{\circ}$ C 静置 30 min。将 HUVEC 按照 1  $\times$  10<sup>4</sup> 个/mL 的细胞密度接种于 24 孔板,按照 1.4.4 节步骤进行分组处理。使用 Nikon 倒置显微镜拍摄照片( $\times$  200),观察小管形成情况。

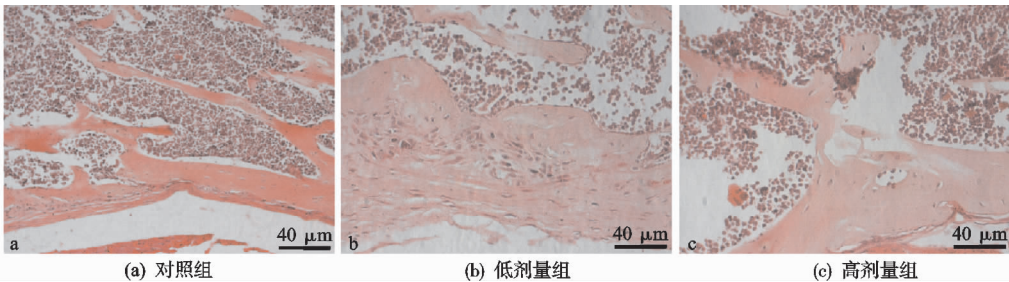


图 1 盘龙七片对骨折愈合的影响

2.2 盘龙七片促进愈合的骨组织中 Ang-1 的蛋白表达与相应时间点的对照组比较,造模后第 1,2,3,4 周高剂量组与低剂量组小鼠的 Ang-1 蛋白含量均显著升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ );第 2 周开始,

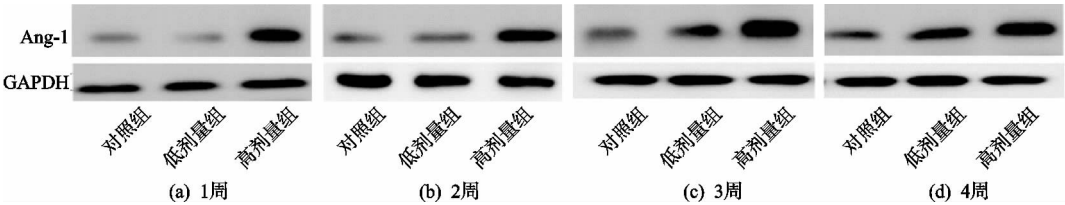


图 2 盘龙七片对愈合骨组织中 Ang-1 蛋白表达量的影响

2.3 盘龙七片促进愈合的骨组织中 bFGF 的蛋白表达与相应时间点的对照组相比,低剂量组从第 2 周开始显著促进愈合骨组织中 bFGF 蛋白表达,高剂量组从第 1 周开始显著促进愈合骨组织中 bFGF 蛋白表

1.5.3 侵袭实验 HUVEC 按照 1.4.4 节步骤进行分组处理,处理完毕后使用含 1% 胎牛血清的 DMEM 培养基制备单细胞悬液。将 Transwell 小室插入 24 孔板,小室中加入 500  $\mu$ L HUVEC 单细胞悬液( $1 \times 10^4$  个/mL),下室加入含 10% 胎牛血清的培养基,于 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 环境下继续培养 6 h。用棉签小心刮去上室中未侵袭的细胞,用多聚甲醛固定细胞,结晶紫染色 15 min,显微镜下观察侵袭细胞数。

1.5.4 苏木精-伊红(HE)染色 骨组织切片进行常规脱蜡水化后,使用 HE 染色 1 min,流水冲洗 5 min 后,滴加苏木精染色 1 min 复染细胞核。切片于显微镜下观察并拍照。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计学分析,数值均采用  $\bar{x} \pm s$  形式表示。两组均数间比较采用  $t$  检验,多组之间采用单因素方差分析后进行 Bonferroni 检测。 $P<0.05$  差异有统计学意义。

2 结果

2.1 盘龙七片促进小鼠骨折愈合

HE 染色结果显示,与对照组相比,造模 3 周后盘龙七片低剂量组与高剂量组均可促进骨折愈合,且高剂量组骨痂区域充满大量的类骨质组成,骨折愈合明显优于低剂量组(见图 1)。

与低剂量组相比,高剂量组中 Ang-1 蛋白含量显著升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。高剂量组和低剂量组 Ang-1 的蛋白表达量具有时间依赖性,随着时间推移,表达量具有升高的趋势(见图 2 及图 3(a))。

达,差异有统计学意义( $P<0.05$ );且与低剂量组比较,造模后第 1,2,3,4 周高剂量组小鼠愈合的骨组织中 bFGF 蛋白表达均显著高于低剂量组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。不同剂量盘龙七片对 bFGF 的蛋

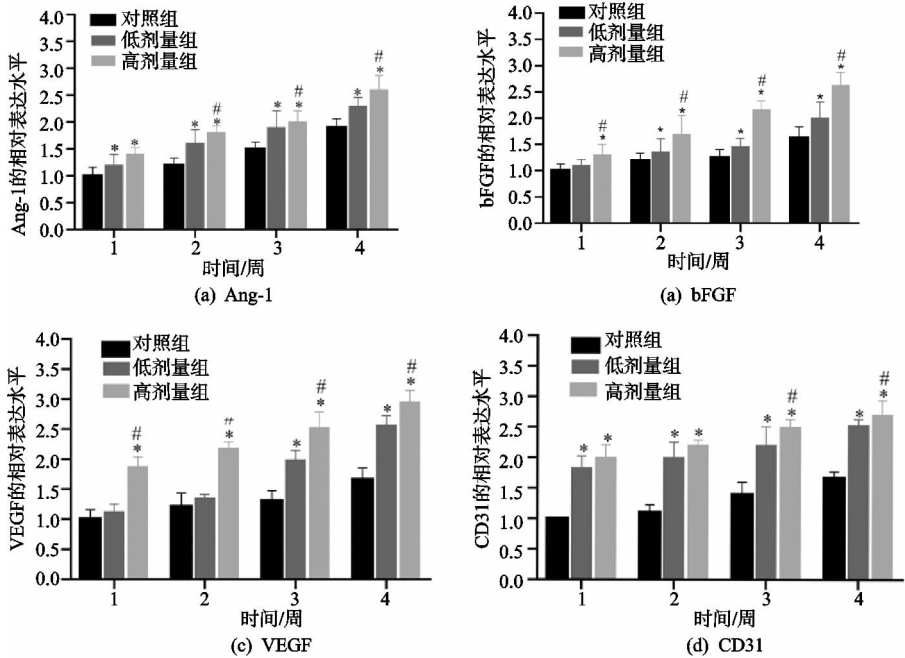
白表达具有时间依赖性(见图 3(b)及图 4)。

2.4 盘龙七片促进愈合的骨组织中 VEGF 及 CD31 的蛋白表达

与相应时间点的对照组相比,低剂量组从第 3 周开始显著促进愈合骨组织中 VEGF 蛋白表达,高剂量组从第 1 周开始显著促进愈合骨组织中 VEGF 蛋白表达,差异有统计学意义( $P<0.05$ );且与低剂量组比较,造模后第 1,2,3,4 周高剂量组小鼠愈合的骨组织

中 VEGF 蛋白表达均显著高于低剂量组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见图 3(c)及图 5。

与相应时间点的对照组相比,低剂量组与高剂量组从第 1 周开始显著促进愈合骨组织中 CD31 蛋白表达,差异有统计学意义( $P<0.05$ );且与低剂量组比较,造模后第 3 周及第 4 周高剂量组小鼠愈合的骨组织中 CD31 蛋白表达均显著高于低剂量组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见图 3(d)及图 5。



注:与相应时间点的对照组相比, \* $P<0.05$ ;与低剂量组相比, # $P<0.05$ 。

图 3 盘龙七片对愈合骨组织中 Ang-1、bFGF、VEGF 及 CD31 蛋白表达的影响比较

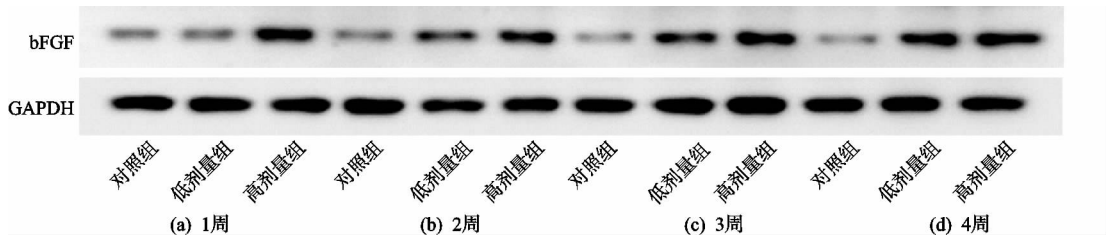


图 4 盘龙七片对愈合骨组织中 bFGF 蛋白表达的影响 Western Blot 法结果

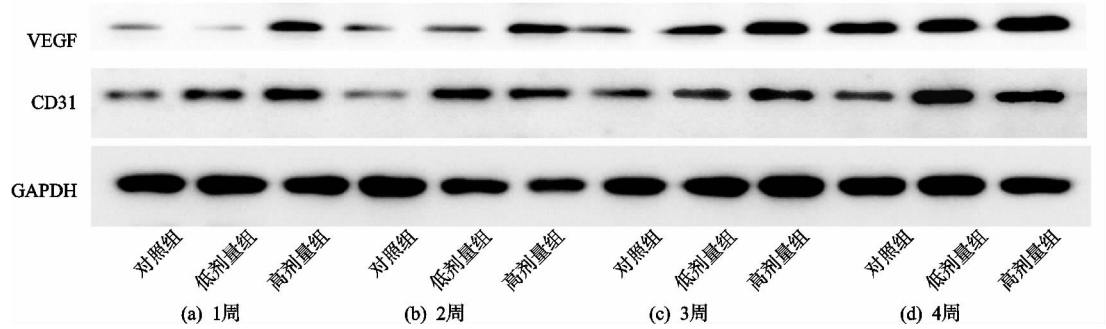


图 5 盘龙七片对愈合骨组织中 VEGF 及 CD31 蛋白表达的影响

2.5 盘龙七片对 HUVEC 侵袭和小管形成能力的影响

小管形成实验结果显示,高剂量组和低剂量组较对照组的小管均增多,高剂量组较低剂量组的管腔完

整性更好(见图 6A)。Transwell 结果显示,高剂量和低剂量盘龙七片均可促进 HUVEC 的侵袭能力,见图 6B。



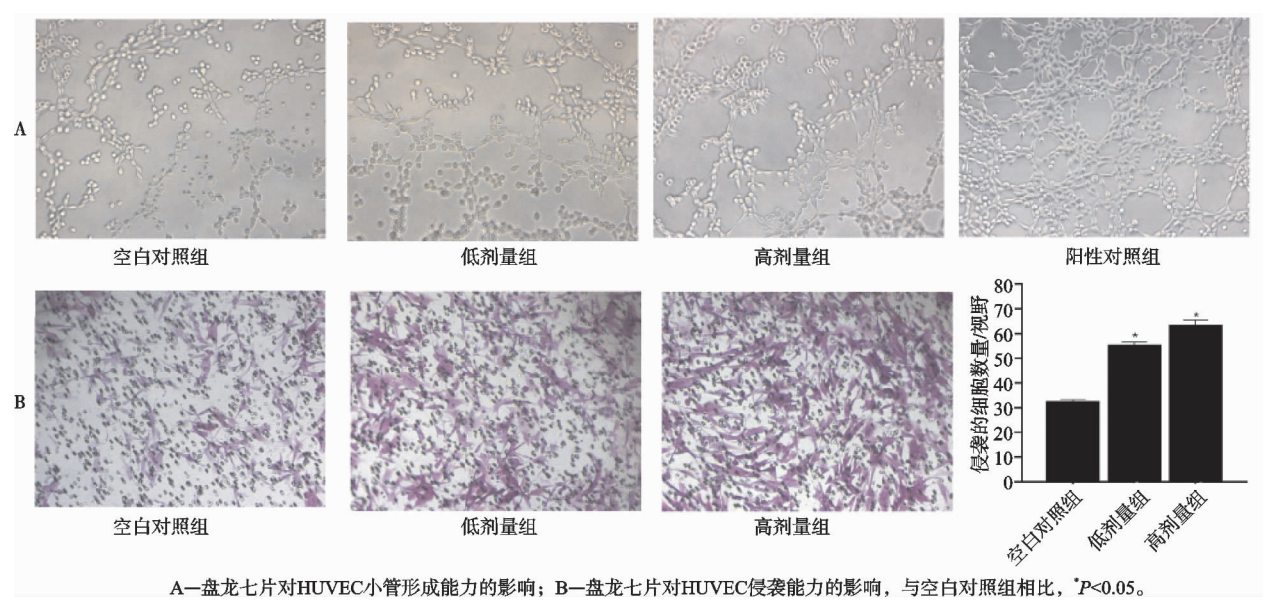


图 6 盘龙七片对 HUVEC 小管形成和侵袭能力的影响

### 3 讨论

盘龙七片是由盘龙七、扣子七、九节梨、当归、杜仲、重楼、红花等 29 种名贵中药萃取加工而成<sup>[9-12]</sup>，具有活血化瘀、疏通经络、消肿止痛的功效<sup>[13-16]</sup>，常用于风湿性关节炎、腰肌劳损、骨折及软组织损伤等疾病的治疗<sup>[17-19]</sup>。已有临床观察研究报告盘龙七片对骨折愈合的影响，胡秀杰等<sup>[20]</sup>发现盘龙七片对治疗 Colles 骨折复位后的肿痛有很好的效果，罗绍清等<sup>[21]</sup>发现盘龙七片对外伤性骨折有良好的临床疗效且能够缩短骨折愈合时间，刘沛霖<sup>[22]</sup>发现盘龙七片配合手法整复术可治疗肱骨髁上骨折，但对其作用机理尚缺乏相关研究。

影响骨折愈合的因素众多，其中血供在骨折愈合中是最基本的因素之一。创伤后的血管生成与重建贯穿骨折修复全过程，多种细胞因子和生成因子参与其中。血管生成有利于改善骨折局部血运及缺氧状态，加快坏死组织和代谢废物的清除，促进血肿的吸收，在原始骨痂形成期防止产生较大的血肿，为骨折愈合提供营养物质，促进骨折部位的修复<sup>[23-26]</sup>。目前为止，还没有研究表明盘龙七片是否对骨折愈合过程中血管生成起作用。本研究用不同剂量盘龙七片处理髓内针固定小鼠闭合性股骨骨折模型，发现盘龙七片显著促进愈合中的骨组织血管生成相关因子 Ang-1、bFGF、VEGF 和 CD31 的蛋白表达量。盘龙七片处理体外培养的 HUVEC，发现其能显著促进细胞的侵袭和小管形成。VEGF 是目前认为作用最强、特异度最高的促血管生成因子，能够促进组织修复、诱导毛细血管生成<sup>[27]</sup>。Ang-1 和 bFGF 也是血管生成的诱导剂，有强烈的促组织修复及血管生成作用<sup>[28]</sup>，CD31 是血管内皮细胞标记物<sup>[29]</sup>。本研究结果表明，盘龙七片高剂量组骨折愈合情况明显优于低剂量组及对照组。盘龙七

片处理第 1,2,3,4 周后，高剂量组和低剂量组正在愈合的骨组织中 Ang-1、bFGF、VEGF 和 CD31 蛋白含量均升高，具有不同程度的时间依赖性；且与低剂量组比较，高剂量组的 Ang-1、bFGF、VEGF 和 CD31 蛋白含量明显升高。这些结果提示在小鼠骨折愈合过程中，盘龙七片可能通过促进血管生成因子、生长因子的表达，作用于血管内皮细胞，促进血管生成，进而帮助骨折部分血运重建，改善缺氧状态，促进骨折愈合修复。

冯周云<sup>[30]</sup>发现红花注射液可以改善脑出血血肿周围缺血区的血供，促进脑出血损伤区血管生成。曹昌霞等<sup>[31]</sup>发现，丹参可以增加 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF、促红细胞生成素表达，促进血管新生，从而保护心肌细胞膜和细胞器的结构和功能。盘龙七片中含有红花和丹参，其对骨折血管生成的促进作用可能源于红花和丹参，通过调控血管生长因子的表达促进骨折血管生成。在体外培养的 HUVEC 实验中，高剂量组和低剂量组对小管生成和细胞侵袭均有促进作用，且高剂量组对小管生成的促进作用更加显著。体外细胞实验进一步提示除影响血管生成因子的表达外，盘龙七片还可能直接作用于血管内皮细胞，进而促进血管生成<sup>[32]</sup>。

综上所述，盘龙七片一方面促进血管生成相关因子的表达，在整个骨折愈合过程中促进血管生成；另一方面，盘龙七片还可直接作用于 HUVEC，促进小管生成和细胞侵袭，进而促进血管生成及骨折修复。

### 参考文献

[1] 刘彦超,赵艳艳,高颖,右美托咪定复合帕瑞昔布钠超前镇痛对老年膝关节骨折术后患者疼痛程度及炎症因子的影响[J]. 中国临床实用医学,2020,11(3):51-54.  
[2] WANG Q,WANG L,WU C,et al. Study on the effect of gukangling liquid on fracture patients[J]. Frontiers in

- Medical Science Research, 2019, 1(2): 1-10.
- [3] 陈计稳, 王华军, 郑小飞. 针灸促进骨折愈合机制的研究进展[J]. 中国骨伤, 2020, 33(1): 93-96.
  - [4] 郑金鑫. 非甾体类药物对骨折患者愈合恢复的研究进展[J]. 中国处方药, 2020, 18(4): 21-22.
  - [5] 杨通宇, 杨丽, 罗衡丽, 等. 院内制剂桃仁消肿胶囊对早期闭合性骨折骨痂微血管新生及 VEGF 表达的实验研究[J]. 基层医学论坛, 2017, 21(25): 3328-3330.
  - [6] ZHANG L, JIAO G, REN S, et al. Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells enhance fracture healing through the promotion of osteogenesis and angiogenesis in a rat model of nonunion[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 1-15.
  - [7] KONG L, WANG Y, WANG H, et al. Conditioned media from endothelial progenitor cells cultured in simulated microgravity promote angiogenesis and bone fracture healing[J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1): 1-14.
  - [8] 许九生, 荔婷婷. 四肢骨折患者采取接骨七厘片治疗的临床疗效及安全性探讨[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(4): 751-753.
  - [9] 周晓莉, 乔平平. 盘龙七片治疗寒湿痹阻型膝关节炎 32 例[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2018, 26(12): 68-69, 72.
  - [10] 马瑞, 王伟, 王坤正. 盘龙七片联合塞来昔布胶囊治疗早期膝关节炎的有效性安全性[J]. 现代中西医结合杂志, 2020, 29(16): 1781-1785.
  - [11] 贾可欣, 刘春芳, 王金霞, 等. 盘龙七片对慢性炎性疼痛大鼠的镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(15): 61-68.
  - [12] 邓小川, 杨傲飞, 何承建. 盘龙七片配合腰椎小关节松解治疗风湿痹阻型腰椎管狭窄症[J]. 中国骨伤, 2014, 27(10): 833-837.
  - [13] 焦龙, 林爱翠. 稳定型桡骨小头骨折的康复治疗: 1 例报告[J]. 中国康复医学杂志, 2019, 34(7): 843-844.
  - [14] 王璐, 徐颖, 刘春芳, 等. 基于网络药理学探讨盘龙七片治疗骨性关节炎配伍的合理性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(18): 166-174.
  - [15] 巨振兴, 徐永军. 盘龙七片联合塞来昔布治疗类风湿性关节炎的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2018, 33(11): 3011-3015.
  - [16] 王婷, 戴冀斌. 盘龙七片联合通督活血汤治疗风湿痹阻型腰椎管狭窄症临床观察[J]. 中国药业, 2019, 28(2): 64-66.
  - [17] 李中华, 张涛, 庞永峰. 盘龙七片治疗小腿骨折术后肿胀疼痛的临床观察[J]. 中国伤残医学, 2019, 27(4): 77-78.
  - [18] 李瑞龙, 张强, 杨刘柱, 等. 盘龙七片治疗急性腰背部软组织损伤 31 例[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2017, 25(4): 75-76.
  - [19] 戴成柏, 李剑, 邵礼武, 等. 手法复位石膏外固定联合盘龙七片治疗 A3 型桡骨远端骨折的早期疗效[J]. 中国临床研究, 2021, 34(2): 190-192.
  - [20] 徐展望. 盘龙七片治疗 Colles 骨折复位后肿胀的临床观察[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2009, 17(8): 58-59.
  - [21] 罗绍清, 刘远峰, 陈永平, 等. 盘龙七片治疗外伤性骨折临床观察[J]. 中国骨伤, 2004, 17(6): 328.
  - [22] 刘沛霖. 手法整复配合盘龙七片治疗肱骨髁上骨折 112 例[J]. 陕西中医药大学学报, 2011, 34(3): 35-36.
  - [23] 刘锋. 活血化瘀汤对骨折早期血管内皮细胞因子活性的影响[J]. 医药前沿, 2017, 7(23): 53-54.
  - [24] 张元斌, 罗程, 童培建. 血管重建相关细胞因子与骨折修复关系的研究进展[J]. 中医正骨, 2017, 29(2): 20-23.
  - [25] 汪民杰. 探讨高压氧联合骨肽治疗对跟骨骨折术后切口血运及骨折愈合的影响[J]. 北方药学, 2019, 16(7): 83-84.
  - [26] 董晤讯, 袁翰, 马勇, 等. 骨血管生成机制与功能的研究进展[J]. 中国现代医学杂志, 2017, 27(27): 51-58.
  - [27] APTE R S, CHEN D S, FERRARA N. VEGF in signaling and disease: beyond discovery and development[J]. Cell, 2019, 176(6): 1248-1264.
  - [28] LIN Q, CHEN X, MENG F, et al. ASPH-notch axis guided exosomal delivery of prometastatic secretome renders breast cancer multi-organ metastasis[J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 156.
  - [29] ZHU Y, RUAN Z, LIN Z, et al. The association between CD31 (hi) Emcn (hi) endothelial cells and bone mineral density in Chinese women[J]. J Bone Miner Metab, 2019, 37(6): 987-995.
  - [30] 冯周云. 红花注射液治疗脑出血的临床研究[J]. 中国现代医生, 2009, 47(23): 64-65.
  - [31] 曹昌霞, 王宏斌, 杨如意, 等. 益心方对模拟高原低氧环境大鼠相关指标及心肌损伤的干预作用[J]. 环球中医药, 2019, 12(7): 994-998.
  - [32] 池晓霞, 高心宇. 丹参调节血管新生及其机制研究进展[J]. 海峡药理学, 2010, 22(2): 3-6.

(收稿日期: 2022-07-12)