

丹参酮 2A 治疗股骨头坏死的作用机制研究

赵云超¹ 李晓明¹ 王恒俊¹ 周婷婷¹ 房庆鹏¹ 赵阳¹

[摘要] **目的:**探究丹参酮 2A 对股骨头坏死小鼠的作用机制及与磷脂酰肌醇 3 激酶(Phosphatidylinositol Kinase,PI3K)-丝氨酸/苏氨酸激酶(Threonine Kinase,Akt)信号通路之间的关系。**方法:**脂多糖联合甲基强的松龙构建股骨头坏死小鼠模型,丹参酮 2A 给药模型小鼠;苏木精-伊红(HE)观察股骨头坏死、空骨陷窝;蛋白免疫印迹(Western Blotting,WB)实验检测股骨头组织或细胞中骨保护素(Osteoprotegerin,OPG)、骨钙素(Osteocalcin,OCN)、含 NLR 家族 PYRIN 域蛋白 3(Nucleotide-binding oligomerization domain,Leucine-rich Repeat and PYRIN Domain-containing 3,NLRP3)、p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt 的蛋白表达;地塞米松(Dex)处理 hFOB 1.19 细胞,模拟股骨头细胞损伤,丹参酮 2A 给药处理;细胞计数试剂盒(CCK8)实验、膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素-碘化丙锭(Annexin V-fluorescein isothiocyanate/propidium iodide,Annexin V-FITC/PI)细胞凋亡检测实验检测细胞增殖率、凋亡率。**结果:**与对照组相比,模型组小鼠股骨头坏死率($\chi^2=12.929, P<0.05$)、空骨陷窝率($t=8.027, P<0.05$)均显著升高,OPG、OCN 蛋白表达显著降低,NLRP3 蛋白表达显著升高,p-PI3K、p-Akt 蛋白表达显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组相比,观察组小鼠以上指标均发生反向变化,趋于对照组。与空白组相比,Dex 组 hFOB 1.19 细胞增殖率显著降低,凋亡率显著升高,OPG、OCN 蛋白表达显著降低,NLRP3 蛋白表达显著升高,p-PI3K、p-Akt 蛋白表达显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 Dex 组相比,丹参酮 2A 组细胞上述指标均反向变化。**结论:**丹参酮 2A 可减轻股骨头坏死的损伤,其作用机制与 PI3K/Akt 信号通路的活性有关。

[关键词] 丹参酮 2A;股骨头坏死;磷脂酰肌醇 3 激酶-丝氨酸/苏氨酸激酶信号通路;骨保护素;骨钙素;增殖;凋亡

[中图分类号] R681 **[文献标志码]** A **[文章编号]**1005-0205(2022)07-0001-05

Study on the Mechanism of Tanshinone 2A on the Treatment of Femoral Head Necrosis

ZHAO Yunchao¹ LI Xiaoming¹ WANG Hengjun¹
ZHOU Tingting¹ FANG Qingpeng¹ ZHAO Yang¹

¹Hebei Cangzhou Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine,Cangzhou 061001,Hebei China.

Abstract Objective:To investigate the efficacy and mechanism of Tanshinone 2A on mice with femoral head necrosis,and the relationship with phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K)-serine/threonine kinase (Akt) signal pathway. **Methods:** Lipopolysaccharide combined with methylprednisolone was used to establish a femoral head necrosis mouse model,and Tanshinone 2A was administered to the mouse model. Hematoxylin eosin (HE) was used to observe the necrosis of femoral head and hollow bone. Western Blotting (WB) was used to detect osteoprotegerin (OPG),osteocalcin (OCN),PYRIN domain protein 3 (nucleotide binding oligomerization domain, Leucine-rich repeat and PYRIN domain-containing 3, NLRP3),p-PI3K,PI3K,p-Akt,Akt protein expression. Dexamethasone (Dex) was used to treat hFOB1.19 cells to simulate the injury of femoral head cells,and Tanshinone 2A was used for treatment. Cell counting kit (CCK8) experiment and Annexin V-fluorescein isothiocyanate/propidium iodide (Annexin V-FITC/PI) apoptosis detection experiment were used

to detect the cell proliferation rate and apoptosis rate.

Results: Compared with the control group,the necrosis rate of femoral head ($\chi^2=12.929$) and empty bone lacuna rate ($t=8.027$) were significantly increased,the protein expression of

OPG and OCN were significantly decreased, the protein expression of NLRP3 was significantly increased, and the protein expression of p-PI3K and p-Akt were significantly decreased ($P < 0.05$) in the model group. Compared with the model group, the above indexes of mice changed inversely in the observation group and tended to the control group. Compared with the blank group, the proliferation rate, apoptosis rate, OPG and OCN protein expression, NLRP3 protein expression, p-PI3K and p-Akt protein expression were significantly decreased in Dex group ($P < 0.05$). Compared with Dex group, the above indexes changed inversely in Tanshinone 2A group. **Conclusion:** Tanshinone 2A could reduce the injury of femoral head necrosis, and its mechanism may be related to the activity of PI3K/Akt signal pathway.

Keywords: Tanshinone 2A; necrosis of femoral head; phosphatidylinositol 3 kinase-serine/threonine kinase signal pathway; osteoprotegerin; osteocalcin; proliferation; apoptosis

据记载, 丹参最早出现在《神农本草经》, 其根、干、茎均具镇痛、活血化瘀功效。现代药理学认为, 丹参或丹参制剂对心脏疾病、免疫疾病及肿瘤均具治疗作用^[1-2]。丹参酮 2A (Tan 2A) 是丹参的主要脂溶性成分, 具抗炎、抗氧化应激、免疫调节等功效^[3-4]。随着医学研究技术的不断进步, 丹参酮 2A 的新功能也不断被发掘。丹参酮 2A 在骨质疏松症、股骨头坏死中的作用及临床效果得到初步肯定^[5], 但是其发挥作用机制仍有待进一步研究。据报道, 磷脂酰肌醇 3 激酶-丝氨酸苏氨酸激酶 (Phosphatidylinositol Kinase/Threonine Kinase, PI3K/Akt) 信号通路在体内参与激素诱导的股骨头缺血性坏死^[6], 于是推测该通路可能与丹参酮 2A 发挥药理作用的潜在机制有关。本研究建立股骨头缺血性坏死小鼠模型和激素诱导的人成骨细胞 hFOB1.19 损伤模型, 观察丹参酮 2A 对模型小鼠和损伤细胞的作用, 揭示这种作用与 PI3K/Akt 信号通路的活性之间的潜在联系, 为丹参酮 2A 用于股骨头坏死的临床治疗提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 30 只 SPF 级 C57 雌性小鼠 (8 周龄, 体质量 18~20 g) 购自北京维通利华动物中心。

1.1.2 试剂及耗材 人成骨细胞 hFOB1.19 购自美国菌种保藏中心; 丹参酮 2A 磺酸钠-标准物质 (D290729) 购自国家标准物质资源平台; 脂多糖 (纯度为 99.99%) 购自上海酶联生物; 甲基强的松龙 (货号为 R007749-1 mL, 纯度为 1.00 mg/mL) 购自上海易恩; HE 染色试剂盒购自武汉博士德; 鼠抗 OPG (E-10) 单抗、OCN、兔抗 NLRP3 单抗、兔抗 p-PI3K 单抗、兔抗 PI3K 单抗、兔抗 p-Akt 单抗、兔抗 Akt 单抗和 HRP 标记的二抗均购自上海艾博抗; 醋酸地塞米松注射液 (国药准字 H51020513, 0.5 mL/2.5 mg) 购自成都天台山制药; 细胞计数试剂盒 (CCK8) 购自上海碧云天研究所; Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒购自日本 Takara; FACS Calibur 流式细胞仪购自美国 Becton Dickinson。

1.2 方法

1.2.1 股骨头坏死小鼠模型的建立及分组 通过肌肉注射脂多糖 (10 mg/kg, 连续 2 d, 1 次/d) 和甲基强的松龙 (40 mg/kg, 连续 3 d, 1 次/d) 构建股骨头坏死小鼠模型。30 只小鼠, 随机分为 3 组, 每组 10 只, 分别记为对照组、模型组和观察组。对照组按照模型组小鼠肌肉注射等剂量的生理盐水; Meeh-Rubner 公式计算丹参酮 2A 磺酸钠注射液的鼠用剂量 35 mg/kg 肌肉注射。观察组建模成功后, 肌肉注射丹参酮 2A, 1 次/d, 连续给药 5 d。给药结束后, 断颈法处死小鼠, 剥离两侧股骨头, 10% 多聚甲醛固定。

1.2.2 HE 染色检测股骨头坏死、空骨陷窝 将股骨头标本固定 24 h 后, 取出进行脱钙、脱水、包埋和切片, HE 染色。显微镜下观察骨坏死情况, 若观察到坏死灶则骨坏死阳性, 未观察到坏死灶则骨坏死阴性。按照五点法计算空骨陷窝数量, 用 (空骨陷窝数/总骨陷窝数) $\times 100\%$ 表示空骨陷窝率。

1.2.3 WB 实验检测组织中 OPG、OCN、NLRP3、p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt 的蛋白表达 无菌条件下充分剪碎、研磨股骨头, 按照 100 μ g 骨头添加 1 mL 裂解液 (800 μ L RIPA + 100 μ L 蛋白酶抑制剂 + 100 μ L 磷酸酶抑制剂 + 10 μ L 苯甲基磺酰氟) 的比例加入裂解液裂解。提取总蛋白, BCA 法检测蛋白浓度, 沸水浴法变性蛋白, 取上清液用于蛋白电泳上样。取 50 μ g 上清, 加入上层分离胶, 80 V 电泳至蛋白快到分离胶转为 120 V 继续电泳至蛋白到达浓缩胶底部。使用转膜仪将凝胶上的蛋白质转至 PVDF 膜, 整个装置需维持在 0 $^{\circ}$ C。结束后, 用含 2.5% 脱脂奶粉的封闭液 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h。充分洗膜, 逐滴滴加稀释的一抗 (兔抗 OPG、OCN、NLRP3、p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt 多抗, 1:800~2 000), 浸润膜, 4 $^{\circ}$ C 冰箱中孵育过夜。洗膜, 滴加稀释的二抗 (HRP 标记的山羊抗兔二抗, 1:500), 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h。洗膜, 滴加 ECL 电化学发光液显影曝光。Image J 分析条带的灰度, 目的蛋白条带灰度/内参 GAPDH 灰度的比值表示蛋白的相对表达量。

1.2.4 细胞培养与分组 hFOB1.19 细胞的培养用混有 10%胎牛血清和 1%双抗的 DMEM 培养液,培养条件为 37℃、5% CO₂ 饱和湿度恒温细胞培养箱,隔天更换一次培养液。将正常培养的 hFOB1.19 细胞标记为空白组;1 μmol/L 的地塞米松(Dex)处理 48 h 的 hFOB1.19 细胞记为 Dex 组;1 μmol/L 的 Dex 和 Tan 2A 10 μg/mL 与 hFOB1.19 细胞共同培养 48 h,记为 Dex+Tan 2A 组。

1.2.5 CCK8 实验检测细胞增殖 将各组细胞培养至 48 h,收集,培养液调至 0.5×10⁵ 个/mL,取 200 μL 入 96 孔板,每孔重复 3 次。37℃培养 12 h,加入 10 μL 的 CCK8 溶液,震荡混匀,避光孵育 1 h。结束后,用 490 nm 波长检测细胞的吸光度(OD₄₉₀)。实验重复 3 次。细胞增殖率=(OD_{490 实验组}/OD_{490 对照组})×100%。

1.2.6 Annexin V-FITC/PI 双染法检测细胞凋亡 收集各组细胞,PBS 液洗涤 3 次,结合缓冲液悬浮细胞。取 500 μL 悬浮液,加入 10 μL 的 Annexin V-FITC 孵育 10 min,再加入 10 μL 的 PI,孵育 20 min。

结束后过 600 目筛,流式细胞仪检测分析细胞凋亡情况。总凋亡率=早期凋亡率+晚期凋亡率。

1.2.7 统计学方法 用统计学软件 SPSS22.0 对实验中的所有数据分析处理。符合正态分布的计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 形式表示。两组数据之间的比较采用独立样本 *t* 检验,多组数据之间的比较采用单因素方差分析。计数资料以中位数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。*P*<0.05 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 丹参酮 2A 减轻股骨头坏死小鼠模型的损伤

如图 1 和表 1 所示,与对照组相比,模型组小鼠股骨头坏死率显著升高,差异有统计学意义($\chi^2=12.929,P<0.001$),空骨陷窝率显著升高,差异有统计学意义(*t*=8.027,*P*<0.001);与模型组相比,观察组小鼠股骨头坏死率显著降低,差异有统计学意义($\chi^2=9.800,P=0.002$),空骨陷窝率显著降低,差异有统计学意义(*t*=5.035,*P*<0.001)。可见丹参酮 2A 可明显改善股骨头坏死小鼠的损伤。

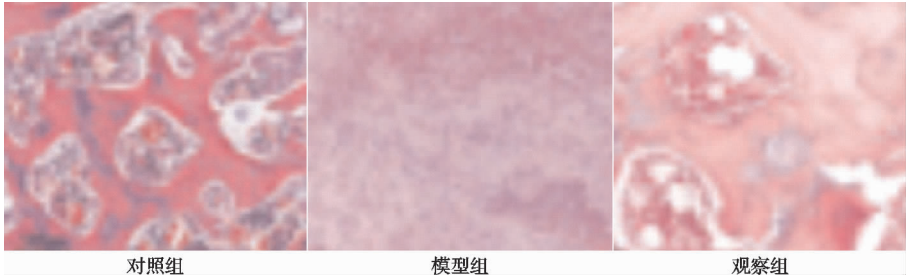


图 1 各组小鼠股骨头 HE 染色(×200)

表 1 丹参酮 2A 对小鼠股骨头坏死及空骨陷窝的影响			
组别	鼠数/只	股骨头坏死/只	空骨陷窝率/% ($\bar{x}\pm s$)
对照组	10	0(0.0%)	8.3±3.3
模型组	10	9(90.0%)	24.8±5.6
观察组	10	1(10.0%)	14.2±3.6

达量显著升高,差异有统计学意义(*P*<0.05);与模型组相比,观察组小鼠股骨头 OPG、OCN 蛋白表达量均显著升高,NLRP3 蛋白表达量显著降低,差异有统计学意义(*P*<0.05),说明丹参酮 2A 可促进股骨头的恢复,抑制致炎因子分泌。

2.2 丹参酮 2A 调控模型小鼠 OPG、OCN、NLRP3 的表达

通过 WB 实验检测各组小鼠股骨头中 OPG、OCN、NLRP3 的蛋白表达,结果如图 2 和表 2 所示。与对照组相比,模型组小鼠股骨头组织中 OPG、OCN 的蛋白相对表达量均显著降低,NLRP3 的蛋白相对表

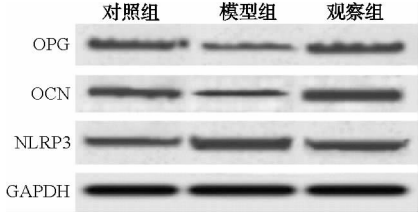


图 2 小鼠股骨头中 OPG、OCN、NLRP3 的蛋白表达

表 2 各组小鼠股骨头中 OPG、OCN、NLRP3 的相对蛋白表达($\bar{x}\pm s$)			
组别	OPG/GAPDH	OCN/GAPDH	NLRP3/GAPDH
对照组	0.99±0.09	1.02±0.11	0.98±0.08
模型组	0.23±0.04	0.47±0.06	1.87±0.21
观察组	0.66±0.08	0.81±0.09	1.41±0.17
<i>F</i>	243.559	87.391	67.364
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 丹参酮 2A 激活模型小鼠 PI3K/Akt 信号通路的活性

如图 3 和表 3 所示,与对照组相比,模型组小鼠股骨头 p-PI3K、p-Akt 的蛋白相对表达量均显著降低,PI3K、Akt 蛋白相对表达量变化不显著($P>0.05$);与模型组相比,观察组小鼠股骨头 p-PI3K、p-Akt 的蛋白相对表达量均显著升高,PI3K、Akt 蛋白相对表达量变化不显著($P>0.05$)。可见丹参酮 2A 可重新激活股骨头坏死小鼠的 PI3K/Akt 信号通路的活性。

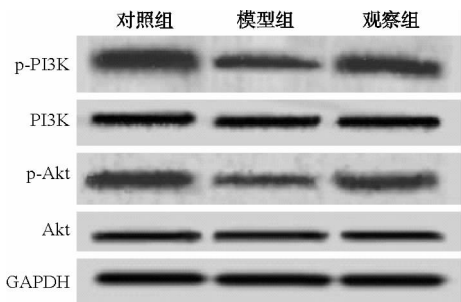


图 3 PI3K/Akt 信号通路关键基因 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt 的蛋白表达

表 3 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt 的相对蛋白表达情况($\bar{x}\pm s$)

组别	p-PI3K/GAPDH	PI3K/GAPDH	p-Akt/GAPDH	Akt/GAPDH
对照组	1.02±0.09	1.00±0.09	1.01±0.11	0.98±0.09
模型组	0.44±0.07	0.99±0.08	0.32±0.05	1.02±0.10
观察组	0.68±0.07	1.02±0.10	0.56±0.08	1.00±0.11
<i>F</i>	128.112	0.257	157.757	0.358
<i>P</i>	<0.001	0.775	<0.001	0.703

2.4 丹参酮 2A 通过激活 PI3K/Akt 信号通路促进 Dex 诱导的 hFOB1.19 细胞存活

通过 CCK8 法检测细胞增殖率,Annexin V-FITC/PI 法检测细胞凋亡,结果如图 4 和表 4 所示。与空白组相比,Dex 组细胞增殖率显著降低,凋亡率显

著升高,p-PI3K、p-Akt 的蛋白表达均显著降低;与 Dex 组相比,Dex+Tan 2A 组细胞上述指标均发生显著的负向变化。可见 PI3K/Akt 信号通路参与丹参酮 2A 保护 Dex 诱导的 hFOB1.19 细胞存活过程。

3 讨论

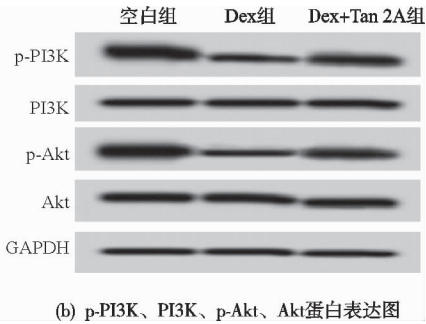
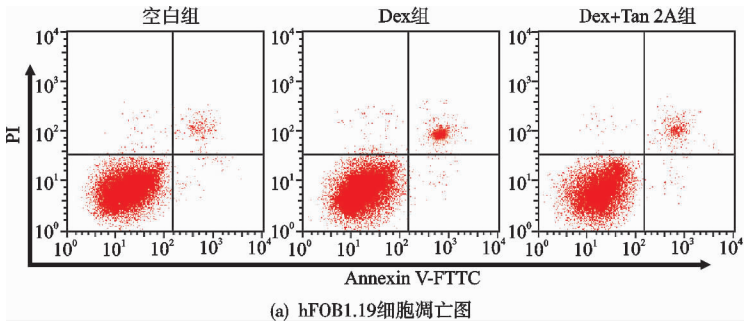


图 4 丹参酮 2A 调控 Dex 诱导的 hFOB1.19 细胞凋亡和 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt 蛋白表达

表 4 丹参酮 2A 调控 Dex 诱导的 hFOB1.19 细胞存活及 PI3K/Akt 信号通路关键基因表达($\bar{x}\pm s$)

组别	增殖率/%	凋亡率/%	p-PI3K/GAPDH	PI3K/GAPDH	p-Akt/GAPDH	Akt/GAPDH
空白组	100.01±6.46	8.68±0.92	0.99±0.10	1.00±0.09	1.02±0.06	0.98±0.08
Dex 组	57.86±6.11	24.54±3.01	0.34±0.07	1.03±0.11	0.26±0.06	0.97±0.06
Dex+Tan 2A 组	74.71±8.32	15.87±1.69	0.57±0.08	1.02±0.10	0.48±0.07	1.00±0.11
<i>F</i>	81.955	137.074	137.704	0.209	341.256	0.285
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	0.813	<0.001	0.754

3.1 丹参酮 2A 对骨骼疾病的影响

丹参酮 2A 在人类心血管疾病、免疫性疾病和肿瘤中均具有治疗作用^[7],其在股骨头坏死中的作用近两年得到重视。Li 等^[8]发现丹参酮 2A 可减轻超高分子量聚乙烯(UHMWPE)诱导的小鼠骨组织损伤和炎症反应,并且其还增加 UHMWPE 诱导的 hFoB 1.19 成骨细胞的活力,抑制凋亡和促炎因子分泌,揭示丹参酮 2A 的抗溶骨作用机制与上调 miR-155-5p 和 OPG,下调 FOXO3 和 RANKL 相关。Zhang 等^[9]发现丹参

酮 2A 明显降低糖尿病小鼠血清和骨中的 ANG II 水平,改善糖尿病小鼠胫骨骨小梁密度和结构,此外还抑制人胚胎肾 293 细胞的肾素活性和 ANG II 的蛋白表达,说明丹参酮 2A 有益于糖尿病小鼠的骨的健康,对治疗骨质疏松症有潜在的药用价值。最近陆续有研究报道^[10-11]丹参酮 2A 在股骨头坏死治疗中的功效,但是其作用机制未见深入研究。本研究成功构建股骨头坏死小鼠模型,并给予丹参酮 2A 治疗,发现丹参酮 2A 明显降低了模型小鼠的股骨头坏死率和空骨陷窝

率,证实了丹参酮 2A 对股骨头坏死损伤的恢复功能。进一步研究发现,丹参酮 2A 还恢复了坏死股骨头中 OPG、OCN 的表达水平,抑制坏死股骨头中炎症小体 NLRP3 的表达,这说明丹参酮 2A 通过促进 OPG、OCN 表达,抑制 NLRP3 来保护股骨头。体外实验发现,丹参酮 2A 抑制了 Dex 诱导的 hFOB 1.19 细胞增殖和凋亡促进作用,进一步说明丹参酮 2A 有益于骨健康。

3.2 PI3K/Akt 信号通路在骨骼疾病治疗中的作用

PI3K/Akt 信号通路在基本的细胞生存、增殖、生长和分化过程中起关键作用^[12-13]。Zhan 等^[14]发现 PI3K/Akt 信号通路的活性在激素性股骨头缺血性坏死大鼠和 Dex 诱导的大鼠成骨细胞中的表达异常降低,大蒜素可抑制大鼠的股骨头坏死进展,抑制 Dex 诱导的成骨细胞凋亡及 C-caspase3、C-caspase9、Bax、细胞色素 C 和 Bcl-2 的失调,其作用机制为激活 PI3K/Akt 信号通路的活性,说明该信号通路在股骨头坏死治疗中发挥着十分重要的作用。Lyu 等^[15]在股骨头缺血性坏死的研究中发现,骨碎补总黄酮能够减轻股骨头坏死大鼠的骨损伤,保护成骨细胞免受 Dex 诱导的增殖抑制和凋亡促进损伤,揭示骨碎补总黄酮保护股骨头缺血性坏死的机制与激活 PI3K/Akt 信号通路的活性有关。为了探究 PI3K/Akt 信号通路在股骨头坏死治疗中的功能及其与丹参酮 2A 之间是否有关联,本研究检测了股骨头中 PI3K/Akt 信号通路关键基因 p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt 的表达,结果显示 p-PI3K、p-Akt 在股骨头坏死组织中表达显著高于对照组,其在 Dex 诱导的 hFOB1.19 细胞中的表达也明显高于空白组,这种情况经丹参酮 2A 给药处理后得到明显恢复,PI3K/Akt 信号通路的活性也被激活,这与前人的研究结果一致,说明 PI3K/Akt 信号通路参与了丹参酮 2A 治疗股骨头坏死的治疗过程。

综上所述,丹参酮 2A 可保护股骨头缺血性坏死,产生这种作用的机制与激活 PI3K/Akt 信号通路相关,为丹参酮 2A 的推广应用奠定了理论基础。

参考文献

- [1] JUNG I,KIM H,MOON S,et al. Overview of *Salvia miltiorrhiza* as a potential therapeutic agent for various diseases; an update on efficacy and mechanisms of action[J]. *Antioxidants* (Basel),2020,9(9):857-897.
- [2] LI Z M,XU S W,LIU P Q. *Salvia miltiorrhiza* Burge (Danshen): a golden herbal medicine in cardiovascular therapeutics[J]. *Acta Pharmacol Sin*,2018,39(5):802-824.
- [3] GU Q C,YIN Z K,FENG Z M,et al. Three 11,12-seco-

- tanshinone derivatives from the rhizomes of *Salvia miltiorrhiza*[J]. *J Asian Nat Prod Res*,2020,22(10):935-940.
- [4] LOU G,HU W,WU Z,et al. Tanshinone II A attenuates vascular remodeling through klf4 mediated smooth muscle cell phenotypic switching[J]. *Sci Rep*,2020,10(1):13858.
- [5] XU X L,SHEN Y W,LYU H,et al. Tanshinone I mitigates steroid-induced osteonecrosis of the femoral head and activates the Nrf2 signaling pathway in rats[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*,2021:8002161.
- [6] XUE X H,FENG Z H,LI Z X,et al. Salidroside inhibits steroid-induced avascular necrosis of the femoral head via the PI3K/AKT signaling pathway: in vitro and in vivo studies[J]. *Mol Med Rep*,2018,17(3):3751-3757.
- [7] GUO R,LI L,SU J,et al. Pharmacological activity and mechanism of tanshinone II A in related diseases[J]. *Drug Des Devel Ther*,2020,14(11):4735-4748.
- [8] LI Y L,ZHANG L,WANG J,et al. Tanshinone II A attenuates polyethylene-induced osteolysis in a mouse model; the key role of miR-155-5p/FOXO3 axis[J]. *J Funct Foods*,2021,87(12):104784.
- [9] ZHANG J J,CAI Z X,YANG M,et al. Inhibition of tanshinone II A on renin activity protected against osteoporosis in diabetic mice[J]. *Pharm Biol*,2020,58(1):219-224.
- [10] 陈中,郑阳,仇湘中,等. 基于网络药理学探究丹参-骨碎补药对治疗股骨头坏死的作用机制[J]. *中国医药导报*,2021,18(24):17-21.
- [11] 阮成群,肖永杰,李记天. 丹参酮 II A 髓内注射治疗非创伤性股骨头缺血性坏死的临床研究[J]. *深圳中西医结合杂志*,2021,31(10):18-19.
- [12] JAFARI M,GHADAMI E,DADKHAH T,et al. PI3K/AKT signaling pathway: erythropoiesis and beyond[J]. *J Cell Physiol*,2019,234(3):2373-2385.
- [13] HE J,ZHANG N,ZHU Y,et al. MSC spheroids-loaded collagen hydrogels simultaneously promote neuronal differentiation and suppress inflammatory reaction through PI3K-AKT signaling pathway[J]. *Biomaterials*,2021,265(1):120448.
- [14] ZHAN J D,YAN Z J,ZHAO M Y,et al. Allicin inhibits osteoblast apoptosis and steroid-induced necrosis of femoral head progression by activating the PI3K/AKT pathway[J]. *Food Funct*,2020,11(9):7830-7841.
- [15] LYU W X,YU M X,YANG Q Y,et al. Total flavonoids of *Rhizoma drynariae* ameliorate steroid induced avascular necrosis of the femoral head via the PI3K/AKT pathway[J]. *Mol Med Rep*,2021,23(5):345-355.

(收稿日期:2021-12-06)