

骨蚀丸通过胰岛素样生长因子 1 治疗 激素性股骨头坏死的机制

李冬¹ 董晓俊¹ 余江琴¹

[摘要] **目的:**研究骨蚀丸(Gushi Pills,GSP)通过胰岛素样生长因子 1(Insulin-like Growth Factor-1, IGF-1)治疗激素性股骨头坏死(Steroid-induced Necrosis of the Femoral Head,SNOFH)的机制。**方法:**建立激素性股骨头坏死新西兰兔模型,检测灌服骨蚀丸混悬液对激素性股骨头坏死新西兰兔模型血清的 IGF-1 水平的影响;建立激素性股骨头坏死新西兰兔模型,检测股骨头髓芯减压术联合骨蚀丸对成骨早期标志物碱性磷酸酶(Alkaline Phosphatase,ALP)活性和骨钙素含量的影响;检测骨蚀丸对小鼠间充质干细胞蛋白激酶 p38MAPK、ERK 和 JNK 的磷酸化的影响,并检测其对成骨早期标志物碱性磷酸酶的影响。**结果:**已成功建立激素性股骨头坏死新西兰兔模型。随着灌服骨蚀丸混悬液浓度的升高,模型组血清的 IGF-1 水平显著升高($P<0.01$)。股骨头髓芯减压术组碱性磷酸酶和骨钙素含量显著高于模型组($P<0.01$)。股骨头髓芯减压联合骨蚀丸组碱性磷酸酶和骨钙素含量显著高于模型组和股骨头髓芯减压术组($P<0.01$)。骨蚀丸干预小鼠间充质干细胞后,p38MAPK、ERK 和 JNK 的磷酸化水平显著升高($P<0.01$);使用 SB203580 和 PD98059 分别抑制 p38MAPK 和 ERK 活性后,碱性磷酸酶水平均显著降低($P<0.01$)。**结论:**骨蚀丸混悬液灌服可以提高激素性股骨头坏死新西兰兔模型血清的 IGF-1 水平。通过与股骨头髓芯减压术联合,可以进一步提高激素性股骨头坏死新西兰兔模型的碱性磷酸酶和骨钙素含量。细胞实验的结果显示骨蚀丸可通过激活 MAPK 信号通路的蛋白激酶 p38MAPK、ERK 和 JNK 磷酸化水平治疗激素性股骨头坏死。

[关键词] 骨蚀丸;股骨头髓芯减压术;胰岛素样生长因子 1;激素性股骨头坏死

[中图分类号] R681.8 **[文献标志码]** A **[文章编号]**1005-0205(2023)09-0015-04

DOI:10.20085/j.cnki.issn1005-0205.230903

Effects of Gushi Pills on the Treatment of Steroid-Induced Avascular Necrosis of the Femoral Head in Rabbits Through IGF-1 Pahway

LI Dong¹ DONG Xiaojun¹ YU Jiangqin¹

¹Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine,Wuhan 430014,China.

Abstract Objective: To investigate the mechanism of gushi pills (GSP) on the treatment of steroid-induced necrosis of the femoral head (SNOFH) through insulin-like growth factor-1 (IGF-1) pathway. **Methods:** A New Zealand rabbit model of SNOFH was established, and the effect of GSP infusion on IGF-1 levels in the serum of New Zealand rabbits with SNOFH was examined. A New Zealand rabbit model of SNOFH was established, and the effects of femoral medullary core decompression combined with GSP on the activity of Alkaline phosphatase (ALP) and the content of osteocalcin in early osteogenesis were detected. The effect of GSP on the phosphorylation of p38MAPK, ERK and JNK in mouse mesenchymal stem cells and its effect on the early osteogenic marker ALP were detected. **Results:** A New Zealand rabbit model of SNOFH has been successfully established. Serum levels of IGF-1 in the model group increased significantly ($P<0.01$), with increasing concentrations of the infused GSP suspension. The ALP and osteocalcin levels were significantly higher in the femoral head medullary core decompression group than that in the model group ($P<0.01$). The levels of ALP and osteocalcin were significantly higher in the femoral medullary core decompression combined with GSP group than that in the model and femoral medullary core decompression groups ($P<0.01$). The p38MAPK, ERK and JNK phosphorylation levels were significantly increased after GSP inter-

vention in mouse MSCs group ($P<0.01$), the levels of ALP were significantly increased after the inhibition of p38MAPK and ERK by SB203580 and PD98059, respectively. ERK activity

were significantly reduced after the inhibition of the p38MAPK and ERK by SB203580 and PD98059, respectively ($P < 0.01$).

Conclusion: GSP suspension infusion can increase IGF-1 levels in serum of the SNOFH New Zealand rabbit model. By combining with femoral head medullary core decompression, ALP and osteocalcin levels in the New Zealand rabbit model of SNOFH could be further increased. The results of the cellular assay showed that GSP could treat SNOFH by activating the protein kinase p38MAPK, ERK and JNK phosphorylation levels of the MAPK signaling pathway.

Keywords: bone erosion pill; femoral head medullary core decompression; insulin-like growth factor 1; hormonal femoral head necrosis

激素性股骨头坏死(SNOFH)是常见的难治性骨病,可导致髋关节疼痛、功能障碍甚至残疾。激素类药物的广泛应用导致激素性股骨头坏死的发病率逐年增加。西医多采用保守治疗的方式,但不能延缓或逆转激素性股骨头坏死的进展。目前仍缺乏有效的治疗激素性股骨头坏死的手段。

在我国骨蚀丸(Gushi Pills, GSP)已广泛应用于激素性股骨头坏死的治疗,疗效显著,然而其治疗激素性股骨头坏死的分子机制尚不清楚^[1-2]。本研究构建激素性股骨头坏死新西兰兔模型,观察骨蚀丸治疗激素性股骨头坏死的临床疗效和作用机制,为骨蚀丸的临床使用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康新西兰兔 62 只,体重为 (2.5 ± 0.5) kg,由湖北省中医药大学动物实验中心提供。

1.1.2 试剂 碱性磷酸酶检测试剂盒(碧云天生物技术公司);抗-p38MAPK、ERK 和 JNK 抗体(武汉 Proteintech 公司);抗-p38MAPK、ERK 和 JNK 磷酸化抗体(美国 abcam 公司);抑制剂 SB203580 和 PD98059(美国 sigma 公司);小鼠间充质干细胞(C3H10T1/2, 武汉大学细胞库);IGF-1 和骨钙素检测试剂盒(武汉云克隆科技股份有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 SNOFH 新西兰兔模型建立 新西兰兔适应性喂养 1 周,随机选取 20 只为空白对照组,其余 42 只参照贺西京研究方法制备激素性股骨头坏死新西兰兔模型。造模组臀部肌注射醋酸强的松龙 8 mg/kg , 2 次/周;空白对照组给予等体积 0.9%氯化钠注射液,2 次/周,连续 6 周。同时所有新西兰兔预防性注射青霉素 $8 \times 10^4 \text{ U/kg}$,庆大霉素 $4 \times 10^4 \text{ U/只}$, 2 次/周,预防感染。全部动物均在同等环境和条件下单笼饲养,6 周后随机处死造模组新西兰兔 2 只观察,确认模型成立,制备成典型的骨坏死模型。

1.2.2 骨蚀丸治疗激素性股骨头坏死的疗效 激素性股骨头坏死新西兰兔模型构建成功后,将造模组 40 只新西兰兔采用随机数字表法分为骨蚀丸方高、中、低

剂量组及模型组 4 组,每组 10 只。各组置于同等条件下喂养,低中高剂量组分别灌服 2.5, 5.0, 10.0 mL/kg 骨蚀丸混悬液,1 次/d;模型组和空白对照组均灌服 10 mL/kg 蒸馏水,1 次/d,连续 8 周。

1.2.3 股骨头髓芯减压术联合骨蚀丸治疗激素性股骨头坏死的疗效 激素性股骨头坏死新西兰兔模型构建成功后,将 30 只激素性股骨头坏死新西兰兔模型分为模型组、股骨头髓芯减压术组和股骨头髓芯减压联合骨蚀丸组 3 组。股骨头髓芯减压术组将新西兰兔腹腔内麻醉,沿双侧大转子切开皮肤皮下,用 2 mm 细钻头向股骨头钻孔,向钻孔注入 20%羧甲基纤维素钠水凝胶,另每日灌服蒸馏水 10 mL/kg,1 次/d。股骨头髓芯减压联合 IGF-1 组的手术部分同股骨头髓芯减压术组,另每日灌服骨蚀丸混悬液 5.0 mL/kg,1 次/d。模型组仅每日灌服骨蚀丸混悬液 5.0 mL/kg,1 次/d。

1.2.4 检测各组 IGF-1 和骨钙素水平 收集各组新西兰兔血清和细胞上清,按照试剂盒说明书检测 IGF-1 和骨钙素含量。

1.2.5 Western Blot 法检测 p38MAPK、ERK 和 JNK 蛋白及其磷酸化蛋白表达水平 利用骨蚀丸含药血清干预间充质干细胞,分为对照组、骨蚀丸组、骨蚀丸+SB203580 组、骨蚀丸+PD98059 组。干预 48 h 后,收集蛋白并加入含有磷酸化酶抑制剂的细胞裂解液,冰上裂解 30 min, 4°C $12\,000g$ 离心 10 min,取上清进行蛋白定量检测。分别配制 10%分离胶和 5%浓缩胶,电泳 2 h,转印 70 min, 5%的 BSA 室温封闭 1.5 h,抗体 4°C 孵育过夜。一抗孵育后洗膜 3 次,每次 5 min。室温孵育二抗 2 h,洗膜 4 次,每次 5 min。洗膜后用 ECL 化学发光试剂液显色,凝胶成像仪曝光成像。

1.3 统计学方法

采用 SPSS25.0 统计学软件进行统计处理。计量资料统计描述采用 $\bar{x} \pm s$ 形式,组内比较则采用配对 t 检验,治疗前后组间比较用成组 t 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨蚀丸对激素性股骨头坏死新西兰兔模型的 IGF-1 的影响

成功建立激素性股骨头坏死新西兰兔模型,模型

组较空白组血清 IGF-1 含量显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。随着模型组灌服骨蚀丸混悬液浓度的升高,血清的 IGF-1 水平显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

表 1 血清中 IGF-1 含量($n=10$)

组别	骨蚀丸混悬液浓度 /($\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)	IGF-1/($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) ($\bar{x} \pm s$)
空白组	0.0	19.12 \pm 2.42
模型组	0.0	9.37 \pm 0.87 ¹⁾
低剂量组	2.5	12.95 \pm 1.32 ²⁾
中剂量组	5.0	15.24 \pm 1.32 ²⁾
高剂量组	10.0	18.02 \pm 1.19 ²⁾

注:1)与空白组比, $P<0.01$;2)与模型组比, $P<0.01$ 。

表 2 血清中碱性磷酸酶和骨钙素含量($\bar{x} \pm s$)

组别	碱性磷酸酶/($\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)	骨钙素含量/($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)
模型组	1.03 \pm 0.14	6.99 \pm 0.9
股骨头髓芯减压术组	1.57 \pm 0.12 ¹⁾	9.62 \pm 0.84 ¹⁾
骨蚀丸联合股骨头髓芯减压术组	2.43 \pm 0.17 ²⁾	12.36 \pm 0.99 ²⁾

注:1)与模型组比, $P<0.01$;2)与股骨头髓芯减压术组比, $P<0.01$ 。

统计学意义($P<0.01$);而骨蚀丸+SB203580 组和骨蚀丸+PD98059 组的碱性磷酸酶明显低于骨蚀丸组,差异有统计学意义($P<0.01$),见图 1。

2.4 小鼠间充质干细胞在 IGF-1 干预下 MAPK 信号通路相关蛋白表达

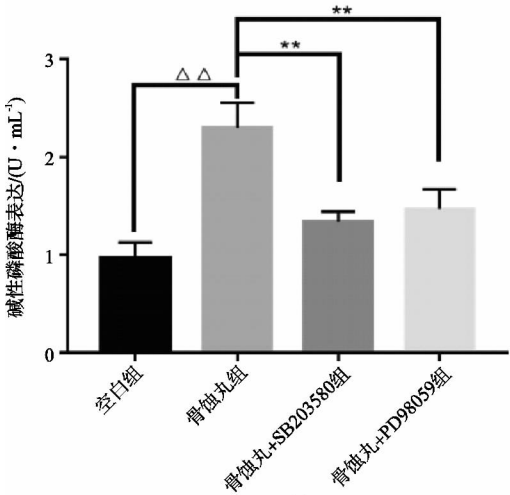
骨蚀丸干预小鼠间充质干细胞后,p38MAPK, ERK 和 JNK 磷酸化水平显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$);使用特异性抑制剂 SB203580 抑制 p38MAPK 活性后,p38MAPK、ERK 和 JNK 磷酸化水平均显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$);使用特异性抑制剂 PD98059 抑制 ERK 活性后,p38MAPK、ERK 和 JNK 磷酸化水平均显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$),见图 2。

2.2 骨蚀丸联合股骨头髓芯减压术对激素性股骨头坏死新西兰兔模型碱性磷酸酶和骨钙素含量的影响

激素性股骨头坏死新西兰兔模型经股骨头髓芯减压术治疗后,碱性磷酸酶和骨钙素含量均显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$);股骨头髓芯减压术联合骨蚀丸组的 IGF-1 的碱性磷酸酶和骨钙素含量明显高于股骨头髓芯减压术组,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 2。

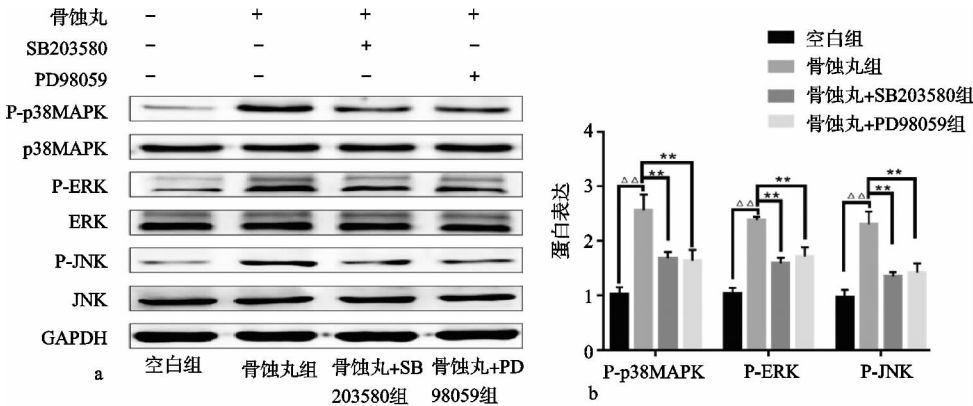
2.3 小鼠间充质干细胞在骨蚀丸干预下碱性磷酸酶的变化

骨蚀丸组比空白组碱性磷酸酶显著升高,差异有



注: *与骨蚀丸组比, $P<0.01$; $\Delta\Delta$ 与对照组比, $P<0.01$ 。

图 1 不同组碱性磷酸酶的表达情况



注: *与骨蚀丸组比, $P<0.01$; $\Delta\Delta$ 与对照组比, $P<0.01$ 。

图 2 IGF-1 干预下 MAPK 信号通路相关蛋白表达情况

3 讨论

股骨头坏死属于中医学“骨蚀”的范畴,中医学对本病病因病机的认识至今尚未明了。大多数医家认为“瘀血内阻、寒湿阻络”为标,“肾阴亏虚”才是疾病的根本。笔者在前人研究的基础上,认识到股骨头坏死辨证关键在于“气血瘀滞、肝肾亏虚、痰湿内蕴”。采用中药辨证施治内服,以“骨蚀丸”为主方治疗大量患者过程中研究发现:中药内服辨证施治在股骨头的修复过程中发挥重要的作用,可以促使骨壮筋舒,气血通利,营卫调和,修复骨结构,再生微循环。骨蚀丸结合蛙泳可以有效缓解早期股骨头坏死患者的临床症状,提高生活质量^[3]。在股骨颈骨折术后股骨头坏死患者的治疗中,骨蚀丸能够提高关节活动度,延长行走距离,缓解髋部疼痛^[4]。

激素性股骨头坏死是长期或大剂量使用激素后最常见的骨头坏死类型^[5],如果没有适当及时的治疗,70%的患者最终会出现股骨头塌陷,需要进行全髋关节置换^[6]。但是单一手术治疗并不能完全逆转激素性股骨头坏死的病变过程,而中医药的应用已得到越来越多的认可^[7-8]。黄芪多糖通过靶向 HIF-3 α 来增加 BNIP1 表达以促进自噬并抑制骨细胞凋亡,进而有效地改善了激素性股骨头坏死^[9]。骨碎补总黄酮可促进 β -catenin 和 RUNX2 的表达,激活 Wnt/ β -catenin 信号通路促进成骨细胞增殖分化^[10]。续断皂苷 VI 能够改善小鼠骨小梁微结构,提高骨髓基质干细胞活力,增加小鼠股骨骨量^[11],骨蚀丸含有上述活性成分,临床上已用于治疗激素性股骨头坏死患者,但其药理作用机制尚不清楚。

在成骨过程中,碱性磷酸酶及其同工酶反映骨代谢,可水解磷酸盐和焦磷酸盐,消除其对成骨的抑制作用,有利于进一步成骨^[12]。成骨细胞分泌碱性磷酸酶和钙盐结晶至细胞外基质中,碱性磷酸酶使局部磷酸含量增高,促使基质矿化^[13]。碱性磷酸酶活性可以反映成骨细胞的分化程度,被认为是成骨细胞分化成熟的早期标志^[14]。

已有研究表明 IGF-1 是促进骨形成的主要生长因子之一^[15],糖皮质激素能够抑制成骨细胞内 IGF-1 基因的转录,从而调节成骨细胞中 IGF-1 的表达^[16]。IGF-1 也是抗凋亡信号的主要调节因子,糖皮质激素可抑制 IGF-1 的自分泌和旁分泌信号通路从而促进细胞凋亡,并抑制成骨细胞的形成,导致骨形成减少和凋亡细胞的积聚,从而导致骨坏死^[17]。

本研究发现灌服骨蚀丸混悬液可以提高激素性股骨头坏死兔模型血清中 IGF-1 水平,进一步研究发现骨蚀丸联合股骨头髓芯减压术能够显著提高碱性磷酸酶和骨钙素含量,因此笔者认为骨蚀丸在临床上可以

辅助股骨头髓芯减压术用于治疗激素性股骨头坏死患者,细胞试验的结果显示骨蚀丸治疗激素性股骨头坏死的作用机制可能与 MAPK 信号通路有关。

总之,本研究表明骨蚀丸治疗激素性股骨头坏死的机制可能与激活 MAPK 信号通路的蛋白激酶 p38MAPK,ERK 和 JNK 磷酸化水平有关,可为骨蚀丸的临床应用提供新的实验依据。

参考文献

- [1] 密林. 研究分析骨蚀丸治疗股骨颈骨折术后继发股骨头坏死的临床效果[J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(27):169.
- [2] 张朝阳,董晓俊,覃剑,等. 骨蚀丸并激光照射治疗非创伤性股骨头坏死的临床研究[J]. 中国实用医药, 2012, 7(23):172-173.
- [3] 张涛,董晓俊. 骨蚀丸结合蛙泳治疗早期股骨头坏死 37 例[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2021, 29(5):66-68.
- [4] 张磊,赵敏,董晓俊. 骨蚀丸治疗股骨颈骨折术后股骨头坏死的疗效观察[J]. 中国民族民间医药, 2012, 21(10):16.
- [5] LIANG XZ, LIU XC, LI S, et al. IRF8 and its related molecules as potential diagnostic biomarkers or therapeutic candidates and immune cell infiltration characteristics in steroid-induced osteonecrosis of the femoral head[J]. J Orthop Surg Res, 2023, 18(1):27.
- [6] 马文龙,陈勤,陈柯,等. 全髋关节置换术治疗成人股骨颈骨折内固定术后 Ficat III、IV 期股骨头坏死的临床疗效[J]. 安徽医药, 2023, 27(4):728-732.
- [7] 黄为,刘琴,韦宗波,等. 激素性股骨头坏死研究现状及趋势可视化分析[J]. 世界中西医结合杂志, 2023, 18(2):225-235.
- [8] HE P, CHEN J, YUE C, et al. Effectiveness and safety of traditional Chinese medicine in the treatment of steroid-osteonecrosis of femoral head: a protocol for systematic review and meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2021, 100(30):e26811.
- [9] ZHANG S Y, WANG F, ZENG X J, et al. Astragalus polysaccharide ameliorates steroid-induced osteonecrosis of femoral head through miR-206/HIF-1 α /BNIP3 axis[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2021, 37(12):1089-1100.
- [10] 李晋玉,俞兴,姜俊杰,等. 骨碎补总黄酮联合纳米骨材料促进 MC3T3-E1 细胞的增殖分化[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24(7):1030-1036.
- [11] 李家,林晓晨,王雅冰,等. 续断皂苷 VI 对小鼠骨髓基质干细胞成骨分化的影响[J]. 口腔颌面修复学杂志, 2017, 18(1):28-32.
- [12] SVENSSON S, PALMER M, SVENSSON J, et al. Monocytes and pyrophosphate promote mesenchymal stem cell viability and early osteogenic differentiation[J]. Mater Sci Mater Med, 2022, 33(1):11.

- supraspinatus tendon tears[J]. *J Shoulder Elbow Surg*, 2019, 28(1):196-202.
- [13] MEYER G A, SHEN K C. A unique sarcopenic progression in the mouse rotator cuff[J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2022, 13(1):561-573.
- [14] OHZONO H, GOTOH M, NAKAMURA H, et al. Effect of preoperative fatty degeneration of the rotator cuff muscles on the clinical outcome of patients with intact tendons after arthroscopic rotator cuff repair of large/massive cuff tears[J]. *Am J Sports Med*, 2017, 45(13):2975-2981.
- [15] SEO S S, CHOI J S, AN K C, et al. The factors affecting stiffness occurring with rotator cuff tear[J]. *J Shoulder Elbow Surg*, 2012, 21(3):304-309.
- [16] PETERSENSA S A, MURPHY T P. The timing of rotator cuff repair for the restoration of function[J]. *Shoulder Elbow Surg*, 2011, 20(7):62-68.
- [17] VALENCIA A P, LAI J K, IYER S R, et al. Fatty infiltration is a prognostic marker of muscle function after rotator cuff tear[J]. *Am J Sports Med*, 2018, 46(9):2161-2169.
- [18] JEONG H Y, KIM H J, JEON Y S, et al. Factors predictive of healing in large rotator cuff tears: Is it possible to predict retear preoperatively? [J]. *Am J Sports Med*, 2018, 46(7):1693-1700.
- [19] DAVIES M R, LEE L, FEELEY B T, et al. Lysophosphatidic acid-induced RhoA signaling and prolonged macrophage infiltration worsens fibrosis and fatty infiltration following rotator cuff tears[J]. *J Orthop Res*, 2016(9):212-215.
- [20] YANG Y, QIU L, GU X, et al. Monitoring rotator cuff muscle fatty infiltration progression by magnetic resonance imaging T₁ mapping: correlation with direct evaluation findings in rats[J]. *Am J Sports Med*, 2022, 50(4):1078-1087.
- [21] FABBRI M, CIOMPI A, LANZETTI R M, et al. Muscle atrophy and fatty infiltration in rotator cuff tears: Can surgery stop muscular degenerative changes? [J]. *J Orthop Sci*, 2016, 21(5):614-618.
- [22] HEBERT-DAVIES J, TEEFEY S A, STEGER-MAY K, et al. Progression of fatty muscle degeneration in atraumatic rotator cuff tears[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2017, 99(10):832-839.
- [23] GODENÈCHE A, ELIA F, KEMPF J F, et al. Fatty infiltration of stage 1 or higher significantly compromises long-term healing of supraspinatus repairs[J]. *J Shoulder Elbow Surg*, 2017, 26(10):1818-1825.
- [24] DAVIS D L, GILOTRA M N, HOVIS J P, et al. Association of rotator cuff tear patterns and intramuscular fatty infiltration on magnetic resonance imaging[J]. *J Clin Imaging Sci*, 2019, 9:38.
- [25] KIM C, LEE Y J, KIM S J, et al. Subscapularis retears associated with preoperative advanced fatty infiltration and greater subscapularis involvement, leading to inferior functional outcomes and decreased acromiohumeral distance[J]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2021, 29(8):2624-2630.
- [26] MIYAZAKI A N, SANTOS P D, DA SILVA L A, et al. Fatty muscle infiltration in cuff tear: pre and post operative evaluation by MRI[J]. *Acta Ortop Bras*, 2015, 23(5):251-254.
- [27] AUDIGÉ L, AGHLMANDI S, GROBET C, et al. Prediction of shoulder stiffness after arthroscopic rotator cuff repair[J]. *Am J Sports Med*, 2021, 49(11):3030-3039.
- [28] KO S H, JEON Y D, KIM M S. Progression of symptomatic partial-thickness rotator cuff tears: association with initial tear involvement and work level [J]. *Orthop J Sports Med*, 2022, 10(6):23259671221105471.
- [29] KIM Y Y, CHUNG B M, KIM W T, et al. MRI findings predictive of shoulder stiffness in patients with full-thickness rotator cuff tears[J]. *Am J Roentgenol*, 2020, 214(5):1146-1151.

(收稿日期:2023-01-08)

(上接第 18 页)

- [13] VIMALRAJ S. Alkaline phosphatase: Structure, expression and its function in bone mineralization [J]. *Gene*, 2020, 754:144855.
- [14] CANNALIRE G, PILLONI S, ESPOSITO S, et al. Alkaline phosphatase in clinical practice in childhood: focus on rickets [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14:1111445.
- [15] ITO E, SATO Y, KOBAYASHI T, et al. Low energy availability reduces bone mass and gonadal function in male mice[J]. *J Bone Miner Metab*, 2023, 41(2):182-192.
- [16] SUN F, ZHOU J L, WEI S X, et al. Glucocorticoids induce osteonecrosis of the femoral head in rats via PI3K/AKT/FOXO1 signaling pathway[J]. *PeerJ*, 2022, 10:e13319.
- [17] DELANY A M, CANALIS E. Transcriptional repression of insulin-like growth factor 1 by glucocorticoids in rat bone cells[J]. *Endocrinology*, 1995, 136(11):4776-4781.

(收稿日期:2023-03-18)