

# 股密葆含药血清对成骨细胞分化成熟的影响及其作用机制

宋奕<sup>1</sup>, 丁道芳<sup>2</sup>, 李玲慧<sup>3</sup>, 杜国庆<sup>3</sup>, 刘锦涛<sup>1</sup>, 詹红生<sup>2</sup>, 姜宏<sup>1</sup>

(1. 江苏省苏州市中医医院, 江苏 苏州 215009; 2. 上海市中医药研究院, 上海 200021;  
3. 上海中医药大学, 上海 201203)

**摘要** 目的: 探讨股密葆含药血清对成骨细胞分化成熟的影响及其作用机制。方法: 将 20 只 2 月龄雌性 SD 大鼠随机分成 4 组, 对照组 8 只, 高、中、低浓度股密葆组各 4 只。对照组按  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  体质量以生理盐水灌胃, 高浓度组按  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  体质量以  $2430 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  股密葆混悬液灌胃, 中浓度组按  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  体质量以  $1215 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  股密葆混悬液灌胃, 低浓度组按  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  体质量以  $607.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  股密葆混悬液灌胃。每天灌胃 1 次, 连续 3 d。末次灌胃后 1 h 提取各组实验大鼠含药血清, 低温保存备用。将 10 只新生 SD 大鼠处死, 取其颅骨, 采用多次酶消化法分离出成骨细胞。将第 1 代成骨细胞分别在含有对照组大鼠血清及高、中、低浓度股密葆含药血清的培养基中培养 1 周后, 采用染色法检测碱性磷酸酶表达情况, 采用 Western Blotting 法检测 I 型胶原、Runt 相关转录因子 2、 $\beta$  连环素及转录因子 4 的蛋白表达情况。结果: ①成骨细胞中碱性磷酸酶的表达。与对照组比较, 各浓度股密葆含药血清组碱性磷酸酶染色较深, 其中中浓度组染色最深。②成骨细胞中 I 型胶原蛋白的表达。对照组、高浓度组、中浓度组、低浓度组 I 型胶原蛋白的表达量比较, 差异有统计学意义 [ $(1.172 \pm 0.047)$ ,  $(2.023 \pm 0.131)$ ,  $(2.792 \pm 0.737)$ ,  $(2.235 \pm 0.525)$ ,  $F = 6.466$ ,  $P = 0.016$ ]。组间两两比较, 中浓度组、低浓度组高于对照组 ( $P = 0.003$ ,  $P = 0.022$ ); 高浓度组与对照组比较, 差异无统计学意义 ( $P = 0.052$ ); 其余各组间比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。③成骨细胞中 Runt 相关转录因子 2 蛋白的表达。各组 Runt 相关转录因子 2 蛋白的表达量比较, 差异有统计学意义 [ $(1.968 \pm 0.263)$ ,  $(2.255 \pm 0.286)$ ,  $(2.675 \pm 0.181)$ ,  $(2.652 \pm 0.211)$ ,  $F = 6.066$ ,  $P = 0.019$ ]。组间两两比较, 中浓度组、低浓度组高于对照组 ( $P = 0.007$ ,  $P = 0.008$ ); 高浓度组与对照组比较, 差异无统计学意义 ( $P = 0.180$ ); 其余各组间比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。④成骨细胞中  $\beta$  连环蛋白的表达。各组  $\beta$  连环蛋白表达量比较, 差异有统计学意义 [ $(1.571 \pm 0.140)$ ,  $(2.264 \pm 0.265)$ ,  $(2.783 \pm 0.432)$ ,  $(2.860 \pm 0.576)$ ,  $F = 6.980$ ,  $P = 0.013$ ]。组间两两比较, 中、低浓度组均高于对照组 ( $P = 0.005$ ,  $P = 0.004$ ); 高浓度组与对照组比较, 差异无统计学意义 ( $P = 0.061$ ); 其余各组间比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。⑤成骨细胞中转录因子 4 蛋白的表达。各组转录因子 4 蛋白表达量比较, 差异有统计学意义 [ $(3.268 \pm 0.298)$ ,  $(3.941 \pm 0.360)$ ,  $(4.446 \pm 0.443)$ ,  $(4.186 \pm 0.249)$ ,  $F = 6.431$ ,  $P = 0.016$ ]。组间两两比较, 高、中、低浓度组均高于对照组 ( $P = 0.044$ ,  $P = 0.003$ ,  $P = 0.012$ ); 其余各组间比较, 差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结论: 适当浓度股密葆含药血清可促进成骨细胞的分化, 其作用机制或许与 Wnt/ $\beta$  连环素信号通路的激活有关。

**关键词** 股骨头坏死 成骨细胞 股密葆 含药血清 碱性磷酸酶 胶原 I 型 Runt 相关转录因子 2  $\beta$  连环素 转录因子 4

**Effect of GUMIBAO medicated serum on osteoblastic differentiation and maturation and its mechanism of action** Song Yi\*, Ding Daofang, Li Linghui, Du Guoqing, Liu Jintao, Zhan Hongsheng, Jiang Hong. \* Traditional Chinese Medicine Hospital of Suzhou city, Suzhou 215009, Jiangsu, China

**ABSTRACT** **Objective:** To explore the effect of GUMIBAO medicated serum on osteoblastic differentiation and maturation and its mechanism of action. **Methods:** Twenty two-month-old female SD rats were randomly divided into 4 groups, 8 cases in control group and 4 cases in each of other groups. Rats in control group were intragastric administrated with normal saline ( $10 \text{ mL/kg}$ ), while other rats were intragastric administrated with GUMIBAO suspension ( $10 \text{ mL/kg}$ ) with dose of  $2430 \text{ mg/mL}$  (high-concentration group),  $1215 \text{ mg/mL}$  (middle-concentration group) and  $607.5 \text{ mg/mL}$  (low-concentration group), once a day for consecutive 3 days. The medicated serum were extracted from rats one hour after the last intragastric administration and were reserved at low temperature. Then ten newborn SD rats were executed and the

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81073114, 81072830), 江苏省中医药管理局 2010 年度康缘中医药科技创新基金 (HZ1013KY), 苏州市科技计划项目 (SYS201257)

通讯作者: 姜宏 E-mail: honghong751@126.com

skulls were fetched out for separating osteoblasts by multiple enzyme digestion. The expression of alkaline phosphatase (ALP) were detected by staining, and the protein expression of collagen type I, Runt-related transcription factor 2, beta catenin and transcription factor 4 were detected by Western Blotting after the first-generation osteoblasts were cultured in medicated serum for 1 week. **Results:** The ALP staining in the GUMIBAO medicated serum groups with different concentration were darker than that of control group, and the ALP staining was the darkest in middle concentration group compared to other groups. There were statistical differences in the expression of collagen type I between the groups ( $(1.172 \pm 0.047)$ ,  $(2.023 \pm 0.131)$ ,  $(2.792 \pm 0.737)$ ,  $(2.235 \pm 0.525)$ ,  $F = 6.466$ ,  $P = 0.016$ ). Further pairwise comparison showed that the expression of collagen type I in middle and low concentration group were higher than that of high concentration group ( $P = 0.003$ ,  $P = 0.022$ ). There were no statistical differences in the expression of collagen type I between high concentration group and control group ( $P = 0.052$ ), while there were no statistical differences between rest groups ( $P > 0.05$ ). There were statistical differences in the protein expression of Runt-related transcription factor 2 between the groups ( $(1.968 \pm 0.263)$ ,  $(2.255 \pm 0.286)$ ,  $(2.675 \pm 0.181)$ ,  $(2.652 \pm 0.211)$ ,  $F = 6.066$ ,  $P = 0.019$ ). Further pairwise comparison showed that middle and low concentration group surpassed the control group ( $P = 0.007$ ,  $P = 0.008$ ), and there were no statistical differences between high concentration group and control group ( $P = 0.180$ ), while there were no statistical difference between rest groups ( $P > 0.05$ ). There were statistical differences in the expression of beta catenin between the groups ( $(1.571 \pm 0.140)$ ,  $(2.264 \pm 0.265)$ ,  $(2.783 \pm 0.432)$ ,  $(2.860 \pm 0.576)$ ,  $F = 6.980$ ,  $P = 0.013$ ). Further pairwise comparison showed that the expression of beta catenin in middle and low concentration group were higher than that of control group ( $P = 0.005$ ,  $P = 0.004$ ), and there were no statistical differences between high concentration group and control group ( $P = 0.061$ ), while there were no statistical differences between rest groups ( $P > 0.05$ ). There were statistical differences in the expression of transcription factor 4 between the groups ( $(3.268 \pm 0.298)$ ,  $(3.941 \pm 0.360)$ ,  $(4.446 \pm 0.443)$ ,  $(4.186 \pm 0.249)$ ,  $F = 6.431$ ,  $P = 0.016$ ). Further pairwise comparison showed that the expression of transcription factor 4 in high, middle and low concentration group were higher than that of control group ( $P = 0.044$ ,  $P = 0.003$ ,  $P = 0.012$ ), while there were no statistical differences between rest groups ( $P > 0.05$ ). **Conclusion:** GUMIBAO medicated serum with suitable concentration can significantly promote osteoblastic differentiation and it may concerned the activation of Wnt/beta catenin signaling pathway.

**Key words** Femur head necrosis; Osteoblasts; GUMIBAO; Medicated serum; Alkaline phosphatase; Collagen Type I; Runt-related transcription factor 2; Beta catenin; Transcription factor 4

股骨头坏死是骨科的常见疾病,当股骨头发生坏死时,其坏死部位的骨重建与修复则同时启动。骨修复的过程主要由破骨细胞介导的骨吸收及成骨细胞介导的骨形成组成。而对于股骨头坏死患者,其成骨细胞修复往往相对不足,导致骨小梁力学强度降低,股骨头塌陷。股密葆是姜宏教授治疗早期股骨头坏死的经验方,临床上取得了较好的疗效<sup>[1]</sup>。本实验旨在探讨股密葆含药血清对成骨细胞分化成熟的影响及其作用机制,为股密葆治疗股骨头坏死提供理论依据。

## 1 材料与仪器

**1.1 实验动物** 2月龄雌性SD清洁级大鼠20只,体重(200±20)g;24h内新生雌性SD清洁级大鼠10只。均由上海市实验动物资源中心提供,实验动物合格证号:SCXK(沪2008-0016)。

**1.2 实验药物** 股密葆方药组成:黄芪30g、丹参15g、制首乌10g、肉苁蓉10g、补骨脂10g、牛膝10g、杜仲10g、续断10g、牡蛎30g,上述药物均选用

上海曙光医院药房生产的中药配方颗粒。将上述药物加入蒸馏水后分别配成2430 mg·mL<sup>-1</sup>、1215 mg·mL<sup>-1</sup>、607.5 mg·mL<sup>-1</sup>的股密葆方混悬液,在4℃的环境下保存备用。

**1.3 实验试剂** H-DMEM培养基(Biowest公司),胎牛血清(Biowest公司),I型胶原酶(Sigma公司),胰蛋白酶(Biowest公司),I型胶原抗体(abcam公司),Runt相关转录因子2(runt-related transcription factor 2, Runx2)抗体(abcam公司),β连环素(β-catenin)抗体(abcam公司),转录因子4(transcription factor 4, TCF4)抗体(CST公司),3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(CST公司),山羊抗兔二抗(CST公司),RIPA裂解液(碧云天公司),BCA蛋白定量试剂盒(美国Pierce公司),磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)片剂(Biowest公司),双抗(Biowest公司),碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)染液(Pierce公司),ECL化学发光检测试剂(millipore公司)。

**1.4 实验仪器** Galaxys 系列二氧化碳培养箱(英国 RS Biotech 公司),酶标仪(基因公司),IX71 型倒置显微镜(Olympus 公司)。

## 2 方 法

**2.1 动物分组** 将 20 只 2 月龄雌性 SD 清洁级大鼠随机分成 4 组,对照组 8 只,高、中、低浓度股密葆组各 4 只。

**2.2 含药血清制备** 对照组按  $10\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  体重量<sup>[2]</sup>以生理盐水灌胃,高浓度组按  $10\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  体重量以  $2\ 430\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  股密葆混悬液灌胃,中浓度组按  $10\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  体重量以  $1\ 215\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  股密葆混悬液灌胃,低浓度组按  $10\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  体重量以  $607.5\text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  股密葆混悬液灌胃。每天灌胃 1 次,连续 3 d。末次灌胃后 1 h,乙醚麻醉,无菌条件下,经腹主动脉采血,静置 4 h 后,用离心机离心 25 min(转速  $3\ 000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,离心半径 13.5 cm),吸取上层血清,56℃水浴 30 min 灭活后,过滤分装,于 -20℃ 的环境下保存备用。

**2.3 成骨细胞培养** 取 24 h 内新生 SD 清洁级大鼠 10 只,脱颈椎将其处死并用 75% 乙醇浸泡 5 min,无菌条件下取出头颅骨,用 PBS 漂洗后剪成  $1\text{ mm}^3$  大小的骨块,置于细胞培养箱中用 0.25% 胰蛋白酶消化 15 min,弃胰蛋白酶,改用 I 型胶原酶消化,反复 4 次<sup>[3]</sup>,收集后 3 次消化液,离心后弃 I 型胶原酶,用含 10% FBS 的 H-DMEM 培养基重悬细胞并接种于培养皿中,隔日换液,待细胞汇合 90% 左右时进行传代。

**2.4 成骨细胞中 ALP 表达的检测** 将第 1 代细胞以每孔  $1 \times 10^5$  个接种于 6 孔板中,常规培养 24 h 后,分别改换含对照组大鼠血清及高、中、低浓度股密葆含药血清的培养基,1 周后通过 ALP 染液进行染色,倒置显微镜下观察成骨细胞 ALP 表达情况并拍照。

**2.5 成骨细胞中相关蛋白表达的检测** 采用 Western-blotting 法。细胞处理同上,1 周后将培养的成骨细胞用蛋白裂解液裂解,BCA 法测定各组细胞蛋白浓度,等量分装后加入上样缓冲液,蛋白变性 10 min、4℃ 冷却后, -20℃ 保存备用。以 10% 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶进行上样电泳,然后将凝胶上的蛋白转印至聚偏二氟乙烯膜,用 10% 的牛血清白蛋白封闭液室温封闭 1 h。将 I 型胶原、Runx2、 $\beta$ -catenin、TCF4 一抗用封闭液按一定比例稀释后,在 4℃ 环境中孵育过夜,回收一抗,用三羟甲基氨基甲

烷缓冲盐水(tris buffered saline with Tween, TBST)洗膜 4 次,每次 10 min。加入用封闭液按 1:2 000 稀释后二抗,室温下孵育 1 h,再用 TBST 洗膜 4 次,每次 10 min。将膜置于 ECL 化学发光试剂中在室温下孵育 5 min,暗室中 X 线片曝光、显影。应用 ImageJ 图像分析软件分析胶片中的目的条带,计算机自动读取并记录每条条带的灰度值。

**2.6 统计学处理** 采用 SPSS15.0 统计软件对所得数据进行统计学处理,各组成骨细胞中 I 型胶原、Runx2、 $\beta$ -catenin 及 TCF4 蛋白表达量的组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 3 结 果

**3.1 成骨细胞中 ALP 的表达** 与对照组比较,各浓度股密葆含药血清组 ALP 染色较深,染色越深表示酶含量越高,其中中浓度组 ALP 染色最深(图 1)。

**3.2 成骨细胞中 I 型胶原蛋白的表达** 各组 I 型胶原蛋白的表达量比较,差异有统计学意义。组间两两比较,中浓度组、低浓度组 I 型胶原蛋白的表达量高于对照组( $P=0.003$ ,  $P=0.022$ );高浓度组 I 型胶原蛋白的表达量与对照组比较,差异无统计学意义( $P=0.052$ );高浓度组 I 型胶原蛋白的表达量与中、低浓度组比较,差异无统计学意义( $P=0.074$ ,  $P=0.587$ );中浓度组 I 型胶原蛋白的表达量与低浓度组比较,差异无统计学意义( $P=0.174$ )。见图 2、表 1。

**3.3 成骨细胞中 Runx2 蛋白的表达** 各组 Runx2 蛋白的表达量比较,差异有统计学意义。组间两两比较,中浓度组、低浓度组 Runx2 蛋白的表达量均高于对照组( $P=0.007$ ,  $P=0.008$ );高浓度组 Runx2 蛋白的表达量与对照组比较,差异无统计学意义( $P=0.180$ );高浓度组 Runx2 蛋白的表达量与中、低浓度组比较,差异无统计学意义( $P=0.063$ ,  $P=0.074$ );中浓度组 Runx2 蛋白的表达量与低浓度组比较,差异无统计学意义( $P=0.909$ )。见图 2、表 1。

**3.4 成骨细胞中  $\beta$ -catenin 蛋白的表达** 各组  $\beta$ -catenin 蛋白表达量比较,差异有统计学意义。组间两两比较,中、低浓度组  $\beta$ -catenin 蛋白的表达量均高于对照组( $P=0.005$ ,  $P=0.004$ );高浓度组  $\beta$ -catenin 蛋白的表达量与对照组比较,差异无统计学意义( $P=0.061$ );高浓度组  $\beta$ -catenin 蛋白的表达量与中、低浓度组比较,差异无统计学意义( $P=0.142$ ,  $P=$

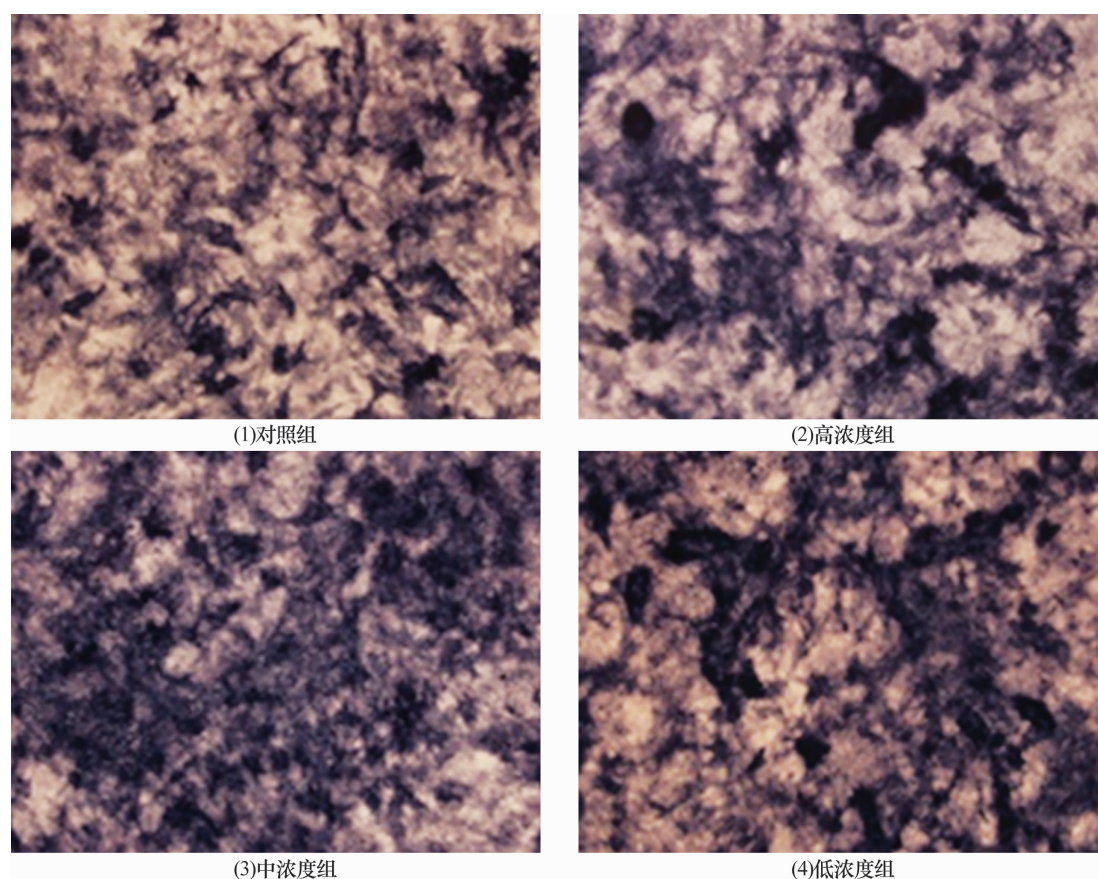


图 1 各组成骨细胞 ALP 染色结果(×100)

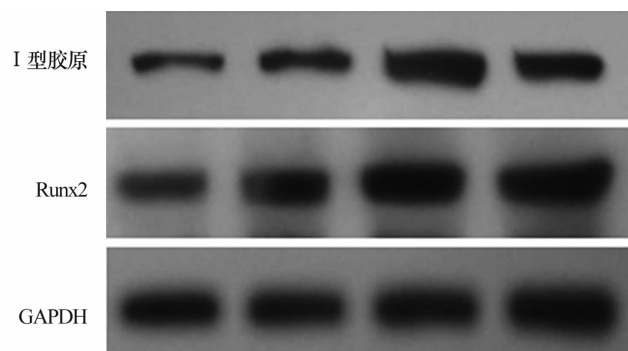


图 2 各组成骨细胞中 I 型胶原蛋白和 Runx2 蛋白的表达

0.098); 中浓度组  $\beta$ -catenin 蛋白的表达量与低浓度组比较, 差异无统计学意义 ( $P = 0.816$ )。见图 3、表 2。

**3.5 成骨细胞中 TCF4 蛋白的表达** 各组 TCF4 蛋白表达量比较, 差异有统计学意义。组间两两比较, 高、中、低浓度组 TCF4 蛋白的表达量均高于对照组 ( $P = 0.044, P = 0.003, P = 0.012$ ); 高浓度组 TCF4 蛋白的表达量与中、低浓度组比较, 差异无统计学意义 ( $P = 0.111, P = 0.410$ ); 中浓度组 TCF4 蛋白的表达量与低浓度组比较, 差异无统计学意义 ( $P = 0.385$ )。见图 3、表 2。

表 1 各组成骨细胞中 I 型胶原蛋白和 Runx2 蛋白表达量的比较

组别	I 型胶原蛋白	Runx2 蛋白
对照组	$1.172 \pm 0.047$	$1.968 \pm 0.263$
高浓度组	$2.023 \pm 0.131$	$2.255 \pm 0.286$
中浓度组	$2.792 \pm 0.737$	$2.675 \pm 0.181$
低浓度组	$2.235 \pm 0.525$	$2.652 \pm 0.211$
<i>F</i> 值	6.466	6.066
<i>P</i> 值	0.016	0.019

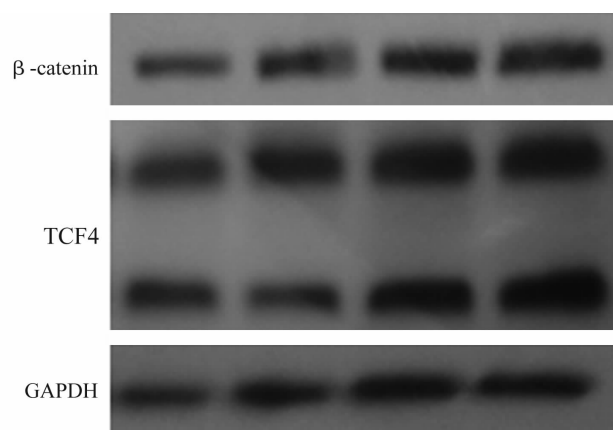
图 3 各组成骨细胞中  $\beta$ -catenin 蛋白和 TCF4 蛋白的表达

表 2 各组成骨细胞中  $\beta$ -catenin 蛋白和 TCF4 蛋白表达量的比较

组别	$\beta$ -catenin 蛋白	TCF4 蛋白
对照组	1.571 $\pm$ 0.140	3.268 $\pm$ 0.298
高浓度组	2.264 $\pm$ 0.265	3.941 $\pm$ 0.360
中浓度组	2.783 $\pm$ 0.432	4.446 $\pm$ 0.443
低浓度组	2.860 $\pm$ 0.576	4.186 $\pm$ 0.249
F 值	6.980	6.431
P 值	0.013	0.016

## 4 讨 论

股密葆是姜宏教授根据多年临床经验提出的治疗早期股骨头坏死的经验方,该方主要治疗肾虚血瘀型股骨头坏死,由补阳还五汤(《医林改错》)、补筋丸(《医宗金鉴》)、补肾活血汤(《伤科大成》)、生血补髓汤(《伤科补要》)四方化裁而成,具有补肾益气、活血祛瘀的功效<sup>[4]</sup>。该方重用黄芪,为君药,具有甘温益气、补气行血、活血化瘀的功效;丹参破血养血、利关节;制首乌养血益肝、补肾健骨;肉苁蓉补肾阳、益精血;牡蛎安神定志、补肾;杜仲、续断、牛膝补肝肾、强筋骨;补骨脂温肾壮阳。诸药配伍,表里兼顾,温散而不伤阴,养阴而不碍阳,共奏补肾益气、活血祛瘀的功效。

在坏死的股骨头中,成骨细胞的分化明显受到抑制,导致骨形成及骨修复速度减慢,股骨头进一步坏死塌陷。成骨细胞起源于多能间充质干细胞,在其成骨分化过程中,转录因子 Runx2 通过多种信号途径起着必不可少的作用<sup>[5]</sup>。成骨细胞能够合成、分泌 ALP、胶原及糖蛋白,形成骨基质,调控破骨细胞的骨吸收作用,维持骨的代谢平衡<sup>[6-7]</sup>。其中 ALP 是成骨细胞分泌的标志性酶,其高表达是成骨细胞分化早期的特异性标志之一<sup>[8]</sup>。I 型胶原蛋白占骨组织有机物成分的 80% ~ 90%,对维持骨组织结构的完整及其生物力学特性起着非常重要的作用<sup>[9]</sup>。Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路与成骨细胞分化密切相关,是目前研究最多的通路之一,其中  $\beta$ -catenin 是通路中最为重要的中枢性因子,能促进成骨细胞分化增殖,促进 ALP、I 型胶原蛋白的表达<sup>[10]</sup>。TCF4 是 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路核内的转录因子,可以通过与  $\beta$ -catenin 结合,在核内共同调控靶基因,如 Runx2 的表达,来调节成骨细胞的活性和功能。本实验结果显示,中、低浓度股密葆含药血清可促进成骨细胞中 ALP、I 型胶原蛋白及 Runx2 蛋白的表达;高浓度股密葆含药血清对成

骨细胞中 I 型胶原蛋白及 Runx2 蛋白表达无明显影响,这可能是由于高浓度股密葆含药血清中部分药物成分浓度过高而产生了一定的毒性作用,从而抑制了本该有的促进作用,需进一步实验研究证实;中、低浓度股密葆含药血清能促进成骨细胞中  $\beta$ -catenin 蛋白和 TCF4 蛋白的表达。

本研究结果显示,适当浓度股密葆含药血清可促进成骨细胞的分化,其作用机制或许与 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的激活有关。但是中药复方具有多途径、多靶点的作用特点,因此 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路未必是股密葆含药血清促进成骨细胞分化的唯一途径,此过程中还存在哪些因素的参与,还需作更进一步的深入研究,以便为临床应用更好地提供理论依据。

## 5 参考文献

- [1] 吉万波,刘冠虹,刘锦涛. “骨密葆”方治疗早中期激素性股骨头坏死 21 例临床研究[J]. 江苏中医药, 2013, 45 (4): 31 - 32.
- [2] 徐淑云,卞如濂,陈修. 药理实验学方法[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 202.
- [3] 李玲慧,丁道芳,杜国庆,等. 不同胶原酶消化对原代成骨细胞获得率及活性的比较[J]. 中国骨伤, 2013, 26 (4): 328 - 331.
- [4] 刘冠虹,吉万波,刘锦涛,等. 姜宏治疗股骨头无菌性坏死经验总结[J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(8): 86 - 87.
- [5] 徐道志,詹红生,赵咏芳. 成骨细胞分化与骨骼发育的转录因子 Cbfa1/Runx2[J]. 中医正骨, 2006, 18(11): 61 - 63.
- [6] 漆海如,黄永明,刘金文,等. 中医药对成骨细胞作用的研究进展[J]. 中医正骨, 2006, 18(1): 66 - 67.
- [7] 智伟,邓力,杨志明,等. 成骨细胞参与骨髓造血微环境的构建及发挥调控作用[J]. 中国修复重建外科杂志, 2007, 21(5): 517 - 522.
- [8] Nguyen H, Qian JJ, Bhatnagar RS, et al. Enhanced cell attachment and osteoblastic activity by P-15 peptide-coated matrix in hydrogels[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 311(1): 179 - 186.
- [9] Oxlund H, Mosekilde L, Ortoft G. Reduced concentration of collagen reducible cross links in human trabecular bone with respect to age and osteoporosis[J]. Bone, 1996, 19 (5): 479 - 484.
- [10] Bain G, Müller T, Wang X, et al. Activated beta - catenin induces osteoblast differentiation of C3H10T1/2 cells and participates in BMP2 mediated signal transduction[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 301(1): 84 - 91.

(2013-08-19 收稿 2013-10-20 修回)