

· 基础研究 ·

温阳补肾药对抗骨髓间充质干细胞凋亡的实验研究

杨黎丽¹, 黄胜杰², 李媚¹, 王和鸣¹

(1. 福建中医药大学, 福建 福州 350003; 2. 马来西亚南方大学, 柔佛 新山 81300)

摘要 目的:探讨温阳补肾药对骨髓间充质干细胞凋亡的影响及作用机制。方法:建立白细胞介素 1 β 诱导体外培养的 SD 大鼠骨髓间充质干细胞凋亡体系,分别向其中加入巴戟天含药血清(A组)、鹿角胶含药血清(B组)、淫羊藿含药血清(C组)、骨碎补含药血清(D组)和空白血清(F组),E组不加入血清。各组细胞培养 48 h 后,采用 RT-PCR 法检测 bcl-2 和 Bax 的 mRNA 表达量,采用电泳法检测骨髓间充质干细胞凋亡体系的建立,采用 Western Blot 法检测 bcl-2 和 Bax 的蛋白表达量。结果:①骨髓间充质干细胞表面标记结果。流式细胞仪检测结果显示 CD₃₄、CD₄₅ 表达阴性,CD₉₀ 表达阳性。②bcl-2 和 Bax 的 mRNA 表达量。各组 bcl-2mRNA 表达量比较,差异有统计学意义($22.25 \pm 1.15, 15.18 \pm 1.51, 15.36 \pm 0.72, 16.12 \pm 0.95, 16.79 \pm 1.39, 16.02 \pm 1.14$; $F=182.000, P=0.000$)。A 组 bcl-2mRNA 表达量高于 B 组、C 组、D 组、E 组和 F 组($P=0.000, P=0.000, P=0.000, P=0.000, P=0.000$);E 组高于 B 组($P=0.030$)。各组 BaxmRNA 表达量比较,差异有统计学意义($19.17 \pm 0.67, 15.37 \pm 1.02, 18.18 \pm 0.23, 17.37 \pm 0.72, 28.36 \pm 0.93, 23.52 \pm 1.26$; $F=28.422, P=0.000$)。A 组 BaxmRNA 表达量高于 B 组和 D 组($P=0.001, P=0.018$),低于 E 组($P=0.001$);B 组低于 C 组、E 组和 F 组($P=0.013, P=0.000, P=0.000$),B 组与 D 组比较,差异无统计学意义($P=0.052$);D 组低于 F 组($P=0.000$);E 组高于 C 组和 F 组($P=0.000, P=0.000$)。③bcl-2DNA 和 BaxDNA 电泳结果。电泳图谱显示,E 组条带与 A 组、B 组、C 组、D 组有明显差异。④bcl-2 和 Bax 的蛋白表达量。各组 bcl-2 蛋白表达量比较,差异有统计学意义($11\ 526.18 \pm 697.38, 20\ 096.88 \pm 953.73, 16\ 784.88 \pm 504.36, 14\ 856.65 \pm 546.90, 8\ 549.29 \pm 313.63, 9\ 004.79 \pm 399.12$; $F=341.740, P=0.000$)。A 组 bcl-2 蛋白表达量低于 B 组、C 组和 D 组($P=0.000, P=0.000, P=0.000$),高于 E 组和 F 组($P=0.000, P=0.000$);B 组高于 C 组、D 组、E 组和 F 组($P=0.000, P=0.000, P=0.000, P=0.000$);C 组高于 D 组、E 组和 F 组($P=0.000, P=0.000, P=0.000$);D 组高于 E 组和 F 组($P=0.000, P=0.000$)。各组 Bax 蛋白表达量比较,差异有统计学意义($12\ 435.09 \pm 1002.35, 4\ 590.96 \pm 71.45, 11\ 721.90 \pm 855.08, 10\ 393.54 \pm 662.79, 13\ 874.83 \pm 541.16, 12\ 774.15 \pm 674.40$; $F=136.305, P=0.000$)。A 组 Bax 蛋白表达量高于 B 组和 D 组($P=0.000, P=0.039$);B 组低于 C 组、D 组、E 组和 F 组($P=0.000, P=0.000, P=0.000, P=0.000$);C 组低于 E 组($P=0.010$);D 组低于 E 组和 F 组($P=0.000, P=0.002$)。结论:温阳补肾药含药血清有对抗白细胞介素 1 β 诱导的骨髓间充质干细胞凋亡的作用,其机制主要是上调抑制凋亡基因 Bcl-2 的表达,下调促进凋亡基因 Bax 的表达,抑制其蛋白酶活性从而降低细胞凋亡率。

关键词 细胞凋亡 温补肾阳 骨髓间充质干细胞

Mechanism of action of warming recuperating kidney medicine against the apoptosis of bone marrow stem cells HUANG Sheng-jie*, YANG Li-li, LI Mei, WANG He-ming. * Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, Fujian, China

ABSTRACT **Objective:** To explore the effect and mechanism of warming recuperating kidney medicine against the apoptosis of bone marrow stem cell (BMSC). **Methods:** The apoptosis system of SD rats BMSC cultured in vitro was established, and the apoptosis was induced by interleukin-1 β (IL-1 β), then the cells were respectively added with morinda root medicated serum (group A), deer-horn glue medicated serum (group B), epimedium herb medicated serum (group C), drynaria fortunei medicated serum (group D) and blank serum (group F), while group E without serum. After culturing 48 h for cells in each group, RT-PCR assay was used to detect mRNA expression levels of bcl-2 and Bax; electrophoresis method used to test the establishment of BMSC apoptosis system; and Western Blot method used to determine the protein expression levels of bcl-2 and Bax. **Results:** ①The results of BMSC surface marker: the test results from flow cytometer were shown that CD₃₄ and CD₄₅ with negative expression, while CD₉₀ with positive expression. ②mRNA expression levels of bcl-2 and Bax: there was statistical difference in bcl-2mRNA expression level among all the groups ($22.25 \pm 1.15, 15.18 \pm 1.51, 15.36 \pm 0.72, 16.12 \pm 0.95,$

基金项目:国家自然科学基金项目(30973763, 81173283),教育部博士点基金-博导类项目(20093519110001)

通讯作者:王和鸣 E-mail:whm27@163.com

16.79 ± 1.39, 16.02 ± 1.14; $F = 182.000, P = 0.000$). bcl-2 mRNA expression level of group A was higher than that of group B, C, D, E and group F respectively ($P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$); group E was higher than group B ($P = 0.030$). There was statistical difference in Bax mRNA expression level among all the groups (19.17 ± 0.67, 15.37 ± 1.02, 18.18 ± 0.23, 17.37 ± 0.72, 28.36 ± 0.93, 23.52 ± 1.26; $F = 28.422, P = 0.000$). Bax mRNA expression level of group A was higher than that of group B and group D respectively ($P = 0.001, P = 0.018$), while lower than group E ($P = 0.001$); group B was lower than group C, E and group F ($P = 0.013, P = 0.000, P = 0.000$), while there was no statistical difference between group B and group D ($P = 0.052$); group D was lower than group F ($P = 0.000$); group E was higher than group C and group F respectively ($P = 0.000, P = 0.000$). ③Electrophoresis results of bcl-2 DNA and Bax DNA: there was significant difference in band between group E and group A, B, C and group D respectively through electrophoresis patterns. ④Protein expression levels of bcl-2 and Bax: there was statistical difference in protein expression level of bcl-2 among all the groups (11 526.18 ± 697.38, 20 096.88 ± 953.73, 16 784.88 ± 504.36, 14 856.65 ± 546.90, 8 549.29 ± 313.63, 9 004.79 ± 399.12; $F = 341.740, P = 0.000$). Protein expression level of bcl-2 of group A was lower than that of group B, C and group D respectively ($P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$), while higher than that of group E and group F respectively ($P = 0.000, P = 0.000$); group B was higher than group C, D, E and group F respectively ($P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$); group C was higher than group D, E and group F respectively ($P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$); group D was higher than group E and group F respectively ($P = 0.000, P = 0.000$). There was statistical difference in protein expression level of Bax among all the groups (12 435.09 ± 1 002.35, 4 590.96 ± 71.45, 11 721.90 ± 855.08, 10 393.54 ± 662.79, 13 874.83 ± 541.16, 12 774.15 ± 674.40; $F = 136.305, P = 0.000$). Protein expression level of Bax of group A was higher than that of group B and group D respectively ($P = 0.000, P = 0.039$); group B was lower than group C, D, E and group F respectively ($P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$); group C was lower than group E ($P = 0.010$); group D was lower than group E and group F respectively ($P = 0.000, P = 0.002$). **Conclusion:** The medicated serum of warming recuperating kidney medicine has the effect of inhibiting BMSC apoptosis induced by IL-1 β , and its main mechanism is to inhibiting proteinase activity through up-regulation the expression of Bcl-2 while down-regulation the expression of Bax, then reduce the apoptosis rate.

Key words Apoptosis; WARMING RECUPERATING KIDNEY; Bone marrow stem cell

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是临床常见的关节疾病,也是引起中老年人关节疼痛的常见原因。骨髓间充质干细胞 (bone marrow stem cell, BMSC) 是具有多分化能力的母细胞,可分化为成骨细胞、软骨细胞和神经细胞等,而软骨细胞的凋亡与 OA 的发生、发展密切相关,因此研究中药对 BMSC 的影响对临床治疗 OA 具有指导意义。温阳补肾药中的巴戟天、鹿角胶、淫羊藿、骨碎补是骨伤科常见的促进骨生成的药物,为探讨其对 BMSC 凋亡的影响,明确其影响骨代谢的作用方式,笔者进行了相关的实验研究,现总结报告如下。

1 材料与仪器

1.1 实验动物 1 月龄雄性 SD 大鼠 8 只,2 月龄雄性 SD 大鼠 50 只,由上海斯莱克实验动物有限公司提供,实验动物合格证号:2007000525103。

1.2 实验药物和试剂 巴戟天颗粒混悬液 (0.27 g · kg⁻¹)、鹿角胶颗粒混悬液 (0.81 g · kg⁻¹)、淫羊藿颗粒混悬液 (0.162 g · kg⁻¹)、骨碎补颗粒混悬液 (0.162 g · kg⁻¹); α -MEM 培养基、胎牛血清 (HyClone 公司);胰蛋白酶 Trypsin 1:250 (Amersco 公司);白细

胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) (Pepro Tech EC 公司);DNA 荧光染料 PI (Coulter 公司);Annexin V-FITC 试剂盒 (Clontech 公司);TRIZOL、RT-PCR 试剂盒 (Invitrogen 公司)。

1.3 实验仪器 Nikon TS100 倒置显微镜;二氧化碳培养箱;Bio-Tek ELX800 酶联免疫检测仪;FACSCalibur 流式细胞分析仪;PE9600 基因扩增仪;DU650 蛋白核酸分析仪;G-STORM 梯度 PCR 仪。

2 方法

2.1 BMSC 分离与培养 取 8 只 1 月龄 SD 大鼠的股骨和胫骨,去除附着的软组织。切去骺软骨,暴露髓腔,用注射器吸取 α -MEM 培养液反复冲洗后将冲洗液移入离心管,以 1 000 r · min⁻¹ 离心 5 min,将所得沉淀物用 α -MEM 培养液反复吹打制成细胞悬液。用细胞计数板计数有核细胞数,调整有核细胞数为 2×10^5 个 · mL⁻¹ 并接种于 250 mL 培养瓶中,置于二氧化碳培养箱中培养。接种 72 h 后半量换液,以后每 2 ~ 3 d 换液 1 次,细胞合成单层后用 0.25% 胰蛋白酶消化,按 1:3 的比例进行传代接种培养。

2.2 含药血清制备 将 50 只 2 月龄雄性 SD 大鼠随

机分为空白组、巴戟天组、鹿角胶组、淫羊藿组和骨碎补组,每组 10 只。巴戟天组、鹿角胶组、淫羊藿组和骨碎补组大鼠分别按 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 以巴戟天颗粒混悬液、鹿角胶颗粒混悬液、淫羊藿颗粒混悬液和骨碎补颗粒混悬液灌胃,空白组以等量生理盐水灌胃。所有大鼠均于每天上午 9 点灌胃 1 次,连续 7 d。取血前禁食 12 h,末次灌胃 1 h 后经腹主动脉取血。将所得血液以 $3\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min,抽取血清,用 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜过滤除菌,分装后置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内保存备用。

2.3 构建 BMSC 凋亡体系和检测 bcl-2 和 Bax 的表达

2.3.1 BMSC 表面标记 将不同代次的 BMSC 用 0.25% 胰酶消化后置于 5 mL 离心管中,用 PBS 液洗 2 次,以 $1\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min 后用 300 目尼龙网过滤,制成单细胞悬液并移入离心管。加预冷的无水乙醇 2 mL 快速混匀后固定 1 h。弃固定液,用 PBS 洗涤 2 次,以 $1\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min 后调整细胞浓度为 1×10^6 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$,分别取 100 μL 细胞悬液与 CD_{34} -FITC、 CD_{45} -FITC、 CD_{90} -FITC 单抗在室温避光条件下孵育 30 min,用流式细胞分析仪检测 BMSC 表面标记。

2.3.2 BMSC 凋亡 取生长良好的第 3 代 BMSC 以 1×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 接种于 6 个 6 孔培养板中,培养 24 h 后弃培养基,分别向 6 个 6 孔培养板中加入 $30 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ IL-1 β + 巴戟天含药血清(A 组)、 $30 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ IL-1 β + 鹿角胶含药血清(B 组)、 $30 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ IL-1 β + 淫羊藿含药血清(C 组)、 $30 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ IL-1 β + 骨碎补含药血清(D 组)、 $30 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ IL-1 β (E 组)和 $30 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ IL-1 β + 空白血清(F 组)。培养 48 h 后分别对各组细胞进行以下实验:RT-PCR 法检测 bcl-2mRNA 和 BaxmRNA 表达量,采用 bcl-2DNA 和 BaxDNA 电泳检测骨髓间充质干细胞凋亡体系的建立,采用 Western Blot 法检测 bcl-2 和 Bax 蛋白表达量。

2.4 统计学方法 采用 SPSS13.0 统计软件对所得数据进行统计分析,各组 BMSCbcl-2mRNA、BaxmRNA 和蛋白表达量的比较采用方差分析,组间两两比较采用 q 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

3 结果

3.1 BMSC 表面标记结果 流式细胞仪检测结果显示 CD_{34} 、 CD_{45} 表达阴性, CD_{90} 表达阳性。

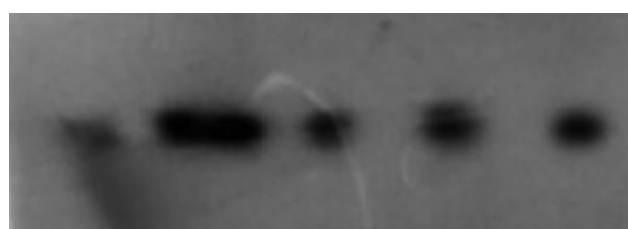
3.2 bcl-2mRNA 和 BaxmRNA 表达量 各组 bcl-

2mRNA 表达量比较,差异有统计学意义。A 组 bcl-2mRNA 表达量高于 B 组、C 组、D 组、E 组和 F 组 ($P = 0.000$, $P = 0.000$, $P = 0.000$, $P = 0.000$, $P = 0.000$);E 组高于 B 组 ($P = 0.030$)。各组 BaxmRNA 表达量比较,差异有统计学意义。A 组 BaxmRNA 表达量高于 B 组和 D 组 ($P = 0.001$, $P = 0.018$),低于 E 组 ($P = 0.001$);B 组低于 C 组、E 组和 F 组 ($P = 0.013$, $P = 0.000$, $P = 0.000$),B 组与 D 组比较,差异无统计学意义 ($P = 0.052$);D 组低于 F 组 ($P = 0.000$);E 组高于 C 组和 F 组 ($P = 0.000$, $P = 0.000$)。(表 1)

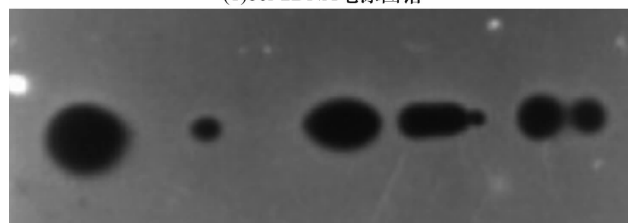
3.3 bcl-2DNA 和 BaxDNA 电泳结果 电泳图谱显示,E 组条带与 A 组、B 组、C 组、D 组有明显差异,说明 IL-1 β 诱导 BMSC 凋亡体系建立成功(图 1)。

表 1 各组 BMSCbcl-2mRNA 和 BaxmRNA 表达量

组别	bcl-2mRNA	BaxmRNA
A 组	22.25 ± 1.15	19.17 ± 0.67
B 组	15.18 ± 1.51	15.37 ± 1.02
C 组	15.36 ± 0.72	18.18 ± 0.23
D 组	16.12 ± 0.95	17.37 ± 0.72
E 组	16.79 ± 1.39	28.36 ± 0.93
F 组	16.02 ± 1.14	23.52 ± 1.26
F 值	182.000	28.422
P 值	0.000	0.000



(1)bcl-2DNA 电泳图谱



(2)BaxDNA 电泳图谱

图 1 BMSCbcl-2DNA 和 BaxDNA 电泳图谱

(1)(2)图谱中的条带从左向右依次为 E 组、B 组、A 组、D 组和 C 组

3.4 bcl-2 和 Bax 蛋白表达量 各组 bcl-2 蛋白表达量比较,差异有统计学意义。A 组 bcl-2 蛋白表达量低于 B 组、C 组和 D 组 ($P = 0.000$, $P = 0.000$, $P = 0.000$),高于 E 组和 F 组 ($P = 0.000$, $P = 0.000$);B

组高于 C 组、D 组、E 组和 F 组 ($P=0.000, P=0.000, P=0.000, P=0.000$); C 组高于 D 组、E 组和 F 组 ($P=0.000, P=0.000, P=0.000$); D 组高于 E 组和 F 组 ($P=0.000, P=0.000$)。各组 Bax 蛋白表达量比较, 差异有统计学意义。A 组 Bax 蛋白表达量高于 B 组和 D 组 ($P=0.000, P=0.039$); B 组低于 C 组、D 组、E 组和 F 组 ($P=0.000, P=0.000, P=0.000, P=0.000$); C 组低于 E 组 ($P=0.010$); D 组低于 E 组和 F 组 ($P=0.000, P=0.002$)。(表 2)

表 2 各组 BMSCbcl-2 和 Baxm 蛋白表达量

组别	bcl-2 蛋白	Bax 蛋白
A 组	11 526.18 ± 697.38	12 435.09 ± 1002.35
B 组	20 096.88 ± 953.73	4 590.96 ± 71.45
C 组	16 784.88 ± 504.36	11 721.90 ± 855.08
D 组	14 856.65 ± 546.90	10 393.54 ± 662.79
E 组	8 549.29 ± 313.63	13 874.83 ± 541.16
F 组	9 004.79 ± 399.12	12 774.15 ± 674.40
F 值	341.740	136.305
P 值	0.000	0.000

4 讨 论

Bcl-2 家族成员分为抑制凋亡和促进凋亡 2 大类^[1], Bcl-2 主要有抑制线粒体释放促凋亡蛋白质、抑制 Caspase 激活、抑制促凋亡的 Bax 细胞毒作用、维持细胞内稳态及直接抗氧化等作用。Bax 能诱导细胞素 C 的释放, 激活 Caspase-9, 启动凋亡级联反应, 故有促凋亡作用^[2]。细胞内 Bax 高表达时, 细胞对死亡信号敏感, 加速细胞凋亡; 当 Bcl-2 高表达, Bcl-2 可与 Bax 形成异源性二聚体, 抑制细胞凋亡^[3]。所以 Bcl-2 和 Bax 的比例对细胞凋亡的敏感性有重要作用, 抑制凋亡因子与促进凋亡因子的总比率, 最终决定细胞的生存或死亡^[4]。

巴戟天能促进转化中的 BMSC 分泌碱性磷酸酶和骨钙素, 增强 BMSC 的检测核心结合因子 $\alpha 1$ 表达^[5-6], 促进体外培养的成骨细胞增殖和转化生长因子 $\beta 1$ 表达^[7-8]。李楠等^[9]的研究发现, 巴戟天可抑制全反式维甲酸而抗成骨细胞凋亡。黄涛等^[10]认为巴戟天能促进兔软骨细胞增殖, 增加软骨细胞的增殖抗原表达。鹿角胶能促进 BMSC 增殖, 促进 BMSC 向软骨分化, 抗软骨细胞表型 BMSC 凋亡^[11-13]。陈克明等^[14]发现淫羊藿总黄酮与淫羊藿苷均有促进 BMSC 增殖和成骨分化的作用, 因此具有促进骨折愈合的作用。尚平等^[15]发现骨碎补总黄酮能促进 OA 家

兔 BMSC 增殖, 可使 II 型胶原蛋白的表达及葡萄糖氨基聚糖含量升高, 促进 BMSC 向软骨分化。

本实验的结果提示, 温阳补肾药含药血清有对抗 IL-1 β 诱导的 BMSC 凋亡的作用, 其机制主要是上调抑制凋亡基因 Bcl-2 的表达, 下调促进凋亡基因 Bax 的表达, 抑制其蛋白酶活性从而降低细胞凋亡率。

5 参考文献

- [1] 王文文, 汤敬谦, 邓毛程, 等. Bcl-2 家族在宫颈癌 HeLa 细胞凋亡中的研究进展[J]. 实用医学杂志, 2011, 27(3): 541-543.
- [2] 许忠新, 李联祥, 关华, 等. Bcl-2 和 Bax 在去卵巢大鼠腺板腺泡上皮表达的研究[J]. 重庆医学, 2011, 40(5): 420-421, 424, 412.
- [3] 张强, 熊婷, 张其梅, 等. 缺血后适应对大鼠脑缺血再灌注损伤 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2011, 27(3): 329-330.
- [4] 于庆生, 余宏亮, 潘晋方, 等. 芪黄煎剂对缺血-再灌注大鼠肠黏膜上皮细胞 Bcl-2、Bax 及 Caspase-3、9 mRNA 表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(2): 223-227.
- [5] 王和鸣, 王力, 李楠. 巴戟天对骨髓基质细胞向成骨细胞分化影响的实验研究[J]. 福建中医学院学报, 2004, 14(3): 16-20.
- [6] 王和鸣, 王力, 李楠. 巴戟天对骨髓基质细胞向成骨细胞分化过程 Cbfa1 表达的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2004, 12(6): 22-26.
- [7] 李楠, 王和鸣, 郭素华, 等. 巴戟天多糖及其水提取物对体外培养成骨细胞活性的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(23): 4570-4572.
- [8] 李楠, 王和鸣, 郭素华, 等. 巴戟天多糖对体外培养成骨细胞核心结合因子 $\alpha 1$ mRNA 表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(8): 517-519.
- [9] 李楠, 王和鸣, 郭素华, 等. 巴戟天多糖含药血清对体外培养成骨细胞凋亡的保护作用观察[J]. 中国骨伤, 2008, 21(1): 39-41.
- [10] 黄涛, 李楠, 王和鸣. 巴戟天多糖对体外培养兔软骨细胞增殖的影响[J]. 北京体育大学学报, 2007, 30(9): 1216-1218.
- [11] 李楠, 王和鸣, 李文顺, 等. 龟鹿二仙胶汤含药血清对兔体外 BMSCs 向软骨细胞分化的干预作用[J]. 上海中医药大学学报, 2007, 21(6): 58-61.
- [12] 王和鸣, 余丹丹, 汤婷婷, 等. 龟鹿二仙胶汤及其拆方对关节软骨细胞增殖的作用[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2007, 15(7): 45-49.

- [13] 李文顺,李楠,王和鸣,等. 龟鹿二仙胶汤含药血清对体外软骨细胞表型 BMSCs 凋亡的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志,2009,17(1):5-7.
- [14] 陈克明,葛宝丰,马慧萍,等. 淫羊藿苷对体外培养骨髓基质干细胞成骨性分化的影响[J]. 中国骨质疏松杂志,2008,14(9):642-645,632.
- [15] 尚平,贺宪,安耀武,等. 骨碎补总黄酮对骨关节炎兔骨髓间充质干细胞软骨定向分化的实验研究[J]. 生物骨科材料与临床研究,2009,6(6):10-13.
- (2012-08-12 收稿 2012-10-03 修回)

· 通 知 ·

全国水针刀三氧消融术尸体解剖研修班及中华筋骨三针法学习班通知

水针刀三氧消融术及筋骨针法是由中国骨伤微创水针刀学术委员会会长、张仲景国医学院教授、广东省中医院主任医师吴汉卿教授在水针刀疗法的基础上,结合三氧治疗仪所研发的新技术,研制发明的多用系列筋骨针具已获国家专利,并创立了十大筋骨针法(已编入骨伤教材),出版了《中华筋骨三针疗法》。该项技术的培训班已举办 180 余期,来自国内包括台湾、香港等地区及国外(马来西亚、新加坡、韩国)的万余名医生学习、掌握了该技术。为满足广大医师要求,现继续举办以下研修、学习班:

水针刀三氧融盘术及尸体解剖研修班:由吴汉卿教授主要传授:水针刀新针法治疗骨伤颈肩腰腿痛病、水针刀三氧融盘术。应用水针刀法结合新鲜尸体详细讲解三针法安全入路法、配合独特松解液及椎间孔扩张术、侧隐窝分离术。新颖的三针法理论、独特的十大针法、结合尸体刀法入路、水针刀挂图,有专科医院手术病人治疗,同时讲解影像诊断,保证每位学员能够独立操作。临床上可治疗腰椎间盘突出症,对颈肩腰腿痛患者具有较好的疗效。

中华筋骨三针法学习班:中华筋骨三针法是吴汉卿教授在水针刀针法九针疗法基础上,根据人体生物力学,提出了人体软组织立体三角平衡学说,创立了平衡三针法。该班传授筋骨三针法原理、三针定位法、十大针法技巧。该法主要治疗:颈椎病、颈 1 横突综合症、颈 7 棘突综合症、肩关节周围炎、肌筋膜炎、腰椎间盘突出症、股骨头坏死症、膝关节骨关节炎、神经痛、类风湿性关节炎、脊柱相关病等。

脊柱九病区药磁线植入技术:传授独特的脊背九大诊疗区,临床应用水针刀分离、磁线留置并配合整脊手法,快速治疗脊柱相关病,如颈源性心脏病、颈性咽炎、面瘫、三叉神经痛、癫痫病、慢性支气管炎、哮喘、胃炎、胃溃疡、结肠炎、生殖疾病等。

其他:参加学习班者将授予国家级中医药 I 类继续教育学分(项目编号:390206006)

开学时间:3 月 1 日开课,以后每月 1 日开课,需提前 2 日报到

报到地址:河南省南阳市仲景路与天山路口(水针刀专科医院)

邮政编码:473000 **联系电话:**0377-63282507,13721820657 **联系人:**黄建

网址:www.shuizhendao.com **邮箱:**shuizhendao@163.com

第 20 届全国中西医结合骨伤科学术研讨会 暨第 2 届中国医师协会中西医结合医师分会骨伤科专家委员会、 第 19 届浙江省中西医结合学会骨伤科专业委员会学术年会 征文通知

由中国中西医结合学会骨伤科专业委员会、中国医师协会中西医结合医师分会骨伤科专家委员会主办,浙江省中西医结合学会、浙江中医药大学、浙江省萧山市中医院承办的第 20 届全国中西医结合骨伤科学术研讨会暨第 2 届中国医师协会中西医结合医师分会骨伤科专家委员会、第 19 届浙江省中西医结合学会骨伤科专业委员会学术年会,将于 2013 年 6 月 21—23 日在浙江杭州召开。大会主题为“融汇中西、美丽骨伤”,大会将同时开设青年论坛。

征文内容:关节、脊柱、创伤、骨病、手足外科(包括显微外科)、小儿骨科及微创骨科、中医骨伤疗法等的基础、理论及临床研究;骨伤科康复、护理的相关研究。

征文要求:① 未公开发表过的论文。② 字数 2 000~5 000 字,且附有 500 字左右的结构式中文摘要(包括目的、方法、结果、结论)。③ 论文文责自负,请勿涉及保密内容。④ 务必注明作者姓名、单位名称、通讯地址、邮政编码、E-mail、手机号码及是否参加青年论坛,参加者请注明作者出生年月。⑤ 稿件请用 office2000 以上版本的 word 文档格式以“附件”形式发送至 gys15507@163.com,邮件主题请注明“会议投稿”。⑥ 截稿日期:2013 年 4 月 30 日。

联系人电话:孙燕 13958011323,陈欣怡 13867180693。