

基于网络药理学方法探究补肾活血汤 治疗激素性股骨头坏死的作用机制

夏天卫¹, 李若颀², 环大维², 李泰贤³, 石佳勇², 高润子², 沈计荣¹

(1. 江苏省中医院, 江苏 南京 210019; 2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023;
3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

摘要 目的:探讨补肾活血汤治疗激素性股骨头坏死(steroid-induced osteonecrosis of the femoral head, SONFH)的作用机制。**方法:**通过中医药整合药理学网络计算研究平台(integrative pharmacology-based network computational research platform of Traditional Chinese Medicine, TCMIP)v2.0 预测、筛选补肾活血汤组方中 14 味中药的作用靶标,通过 GeneCards、CTD 和 OMIM 数据库查询 SONFH 的疾病靶点。根据获取的药物靶标和疾病靶点,进一步利用 TCMIP v2.0 中医药关联网络分析模块构建“药物靶标-疾病靶点”相互作用网络,根据网络拓扑特征值筛选补肾活血汤治疗 SONFH 的核心作用靶点。利用 GO 和 KEGG 数据库,采用富集算法挖掘上述方剂核心作用靶点的生物学功能和通路信息。**结果:**共获得 891 个补肾活血汤药物靶标和 365 个 SONFH 疾病靶点。经“药物靶标-疾病靶点”相互作用网络分析,最终筛选出 31 个补肾活血汤治疗 SONFH 核心靶点,GO 功能分析富集出生物过程 532 条、分子功能 29 条,KEGG 信号通路富集分析出相关通路共 12 条,主要涉及炎症免疫调节(chemokine signaling pathway, Toll-like receptor signaling pathway, NOD-like receptor signaling pathway, leukocyte transendothelial migration, Complement and coagulation cascades, cytokine-cytokine receptor interaction)、血管新生及血液循环调节(VEGF signaling pathway)、神经系统调节(neuroactive ligand-receptor interaction)和细胞功能调节(apoptosis, regulation of actin cytoskeleton)等方面。**结论:**结合 SONFH 的病理机制,排除缺乏特异性的信号通路,我们推测补肾活血汤可能通过调节 TLR4/NF- κ B 和 VEGF 信号通路发挥补肾壮骨、活血化瘀的功效,这可能是其治疗 SONFH 的作用机制之一。

关键词 股骨头坏死;补肾活血汤;药理作用分子作用机制;信号通路;网络药理学

A study of mechanism of action of Bushen Huoxue Tang(补肾活血汤)for treatment of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head using network pharmacology approach

XIA Tianwei¹, LI Ruoli², HUAN Dawei², LI Taixian³, SHI Jiayong², GAO Runzi², SHEN Jirong¹

1. Jiangsu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210019, Jiangsu, China

2. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu, China

3. Institute of Chinese Materia Medica of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

ABSTRACT Objective: To explore the mechanism of action of Bushen Huoxue Tang(补肾活血汤, BSHXT) for treatment of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head(SONFH). **Methods:** Fourteen Traditional Chinese Medicines(TCMs) in BSHXT prescription were screened for predicting their therapeutic targets by searching integrative pharmacology-based network computational research platform of Traditional Chinese Medicine(TCMIP)v2.0, and the pathogenic targets of SONFH were searched from GeneCards, CTD and OMIM databases. The network of interaction between drug targets and disease targets was built by using TCM association network analysis module of TCMIP v2.0 according to the obtained drug targets and pathogenic targets, and the core therapeutic targets of BSHXT for treatment of SONFH were selected according to network topology eigenvalues. The biological function and pathway information of core therapeutic targets of BSHXT were found out from Gene Ontology(GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG) databases by using enrichment algorithm. **Results:** Eight hundred and ninety-one therapeutic targets of BSHXT and 365 pathogenic targets of SONFH were obtained. Thirty-one core targets of BSHXT for treatment of SONFH were selected out finally through analyzing the network of interaction between drug targets and pathogenic targets. The results of GO enrichment analysis demonstrated 532 pieces of information about biological processes and

29 pieces of information about molecular function and the results of KEGG enrichment analysis demonstrated 12 signal pathways, which related to inflammatory – immune regulation (chemokine signaling pathway, Toll – like receptor signaling pathway, NOD – like receptor signaling pathway, leukocyte transendothelial migration, Complement and coagulation cascades, cytokine – cytokine receptor interaction), angiogenesis and blood circulation regulation (VEGF signaling pathway), nervous system regulation (neuroactive ligand – receptor interaction) and cell function regulation (apoptosis, regulation of actin cytoskeleton). **Conclusion:** After ruling out nonspecific signaling pathways according to the pathological mechanism of SONFH, we can infer that BSHXT may produce the effect of reinforcing kidney and strengthening bone and activating blood and resolving stasis through regulating TLR4/NF – κ B and VEGF signal pathways, which may be one of its mechanisms of action in treatment of SONFH.

Keywords femur head necrosis; Bushen Huoxue Tang; molecular mechanisms of pharmacologic action; signaling pathway; network pharmacology

股骨头坏死 (osteonecrosis of the femoral head, ONFH) 是多种病因导致股骨头血液供应不良, 骨的微结构改变, 股骨头塌陷、关节功能障碍的疾病^[1], 该病发生率高^[2-3], 治疗难度较大。激素性股骨头缺血坏死 (steroid – induced osteonecrosis of the femoral head, SONFH) 目前已成为我国 ONFH 的主要类型。中医药具有多成分、多靶点、系统调控的优势, 在本病治疗中应用较广^[4-6]。我们在临床中选择《伤科大成》所载补肾活血汤^[6-8]进行加减, 用于治疗 SONFH, 取得了较好的临床效果^[9-14], 但对其作用机制尚不完全清楚。

网络药理学是从整体上探索药物与疾病的关联性, 阐释单药或复方“多组分、多靶点、多途径”的药理机制, 与中医的整体观念不谋而合^[15-17], 其在中药药理研究、新药发现、药物重新定位等方面已取得了不少成果^[18-19]。本研究基于网络药理学方法探讨了补肾活血汤治疗 SONFH 的作用机制, 现总结报告如下。

1 材料与仪器

中医药整合药理学网络计算研究平台 (integrative pharmacology – based network computational research platform of Traditional Chinese Medicine, TCMIP) v2.0, GeneCards 数据库, CTD 数据库, OMIM 数据库, Cytoscape 3.2.1 软件。

2 方法

2.1 补肾活血汤药物靶标及 SONFH 疾病靶点筛选

分别以补肾活血汤组方中的 14 味中药 (熟地黄、肉桂、独活、桑寄生、淫羊藿、补骨脂、当归、丹参、川芎、牛膝、乳香、没药、白术、甘草) 为关键词, 在 TCMIP v2.0 中进行检索, 预测并筛选补肾活血汤 14 味中药的作用靶标。检索条件: 预测准确性 > 0.8, 中药所含

化学成分成药性定量评估值为 0.49 ~ 1.0。分别以 steroid – induced osteonecrosis of the femoral head 和 SONFH 为关键词, 在 GeneCards 数据库、CTD 数据库、OMIM 数据库中搜集 SONFH 的疾病靶点。

2.2 补肾活血汤治疗 SONFH 核心靶点筛选 根据获取的药物靶标和疾病靶点, 进一步利用 TCMIP v2.0 的中医药关联网络分析模块, 构建“药物靶标 – 疾病靶点”相互作用网络。选取初级网络中连接度大于所有节点连接度中位数 2 倍的节点作为 Hub 节点, 基于 Hub 节点之间的直接相互作用信息生成 Hub 节点相互作用网络。计算 Hub 节点在网络中 Degree、Betweenness、Closeness、Neighborhood – Connectivity 等 4 个拓扑特征值, 拓扑特征值均大于相应中位数的 Hub 节点为 Major Hubs, 筛选补肾活血汤治疗 SONFH 核心靶点。将筛选后的核心靶点上传至 Cytoscape 3.2.1 软件, 生成补肾活血汤药物 – SONFH 疾病核心靶点相互作用网络, 展现复方在系统水平上对疾病的作用。

2.3 补肾活血汤治疗 SONFH 核心靶点生物学功能和信号通路分析 利用 GO 和 KEGG 数据库, 采用富集算法挖掘上述方剂核心靶点的生物学功能和通路信息。将 $P < 0.05$ 设定为基本筛选条件, 利用 R 语言 3.6.2 数据包分别对 GO 功能富集分析排名前 20、KEGG 信号通路富集分析排名前 10 的富集结果进行可视化处理。

3 结果

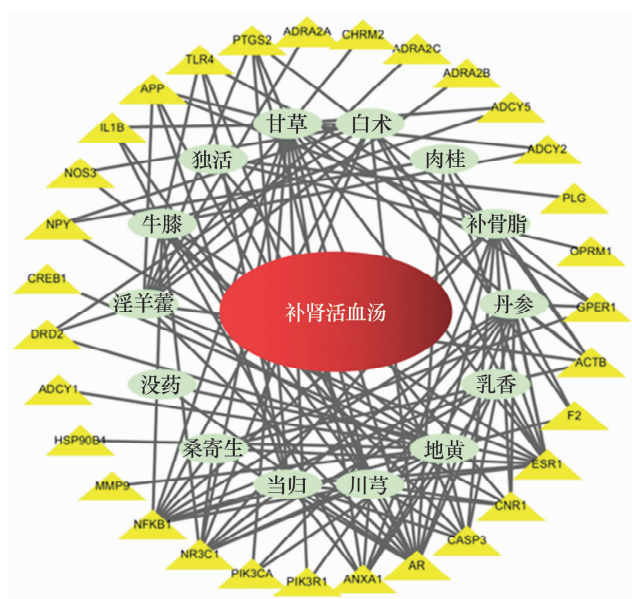
3.1 补肾活血汤药物靶标及 SONFH 疾病靶点筛选结果

通过在 TCMIP v2.0 中进行检索、去除重复, 共获得 891 个补肾活血汤靶标基因。基于 GeneCards、CTD、OMIM 数据库, 共收集到 372 个 SONFH 疾病靶点, 其中 GeneCards 数据库 215 个、OMIM 数据库

157 个,去除 7 个重复疾病靶点后,最终获得 365 个 SONFH 疾病靶点。

3.2 补肾活血汤治疗 SONFH 核心靶点筛选结果

根据获取的药物靶标和疾病靶点构建的“药物靶标-疾病靶点”相互作用网络由 1060 个节点之间的 10 638 对相互作用组成,以从中筛选出 206 个 Hub 节点构建的 Hub 节点相互作用网络包含 3285 对相互作用,最终筛选出 46 个 Major Hubs,其中 31 个为补肾活血汤药物靶标,故将其作为补肾活血汤治疗 SONFH 核心靶点。据此绘制的补肾活血汤药物-SONFH 疾病核心靶点相互作用网络图见图 1。



ADRA2A: α 2A 肾上腺素能受体基因; CHRM2: 毒蕈碱型胆碱受体 M2 基因; ADRA2C: α 2C 肾上腺素能受体基因; ADRA2B: α 2B 肾上腺素能受体基因; ADCY5: 腺苷酸环化酶 5 基因; ADCY2: 腺苷酸环化酶 2 基因; PLG: 纤溶酶原基因; OPRM1: μ 阿片受体 M1 基因; GPER1: G 蛋白耦联雌激素受体 1 基因; ACTB: 肌动蛋白 β 基因; F2: 凝血因子 II 基因; ESR1: 雌激素受体 α 基因; CNR1: 大麻素受体 1 基因; CASP3: 半胱冬天酶 3 基因; AR: 雄激素受体基因; ANXA1: 膜联蛋白 A1 基因; PIK3R1: 磷脂酰肌醇 3 激酶调节亚基 1 基因; PIK3CA: 磷脂酰肌醇 3 激酶催化亚单位 α 基因; NR3C1: 核受体亚家族 3C 组成员 1 基因; NFKB1: 核因子 κ B1 基因; MMP9: 基质金属肽酶 9 基因; HSP90B1: 热休克蛋白 90 β -1 基因; ADCY1: 腺苷酸环化酶 1 基因; DRD2: 多巴胺受体 D2 基因; CREB1: 环磷酸腺苷反应元件结合蛋白 1 基因; NPY: 神经肽 Y 基因; NOS3: 内皮型一氧化氮合成酶 3 基因; IL1B: 白细胞介素 1 β 基因; APP: 淀粉样前体蛋白基因; TLR4: Toll 样受体 4 基因; PTGS2: 前列腺素内过氧化物合酶 2 基因

图1 补肾活血汤药物-激素性股骨头坏死疾病核心靶点相互作用网络图

3.3 补肾活血汤治疗 SONFH 核心靶点生物学功能

和信号通路分析结果 GO 功能分析富集出生物过程 532 条、分子功能 29 条,排名前 20 的富集结果见图 2、图 3。KEGG 信号通路富集分析出相关通路共 12 条,排名前 10 的富集结果见图 4。分析结果显示,补肾活血汤治疗 SONFH 核心靶点主要涉及炎症免疫调节(chemokine signaling pathway, Toll - like receptor signaling pathway, NOD - like receptor signaling pathway, leukocyte transendothelial migration, complement and coagulation cascades, cytokine - cytokine receptor interaction)、血管新生及血液循环调节(VEGF signaling pathway)、神经系统调节(Neuroactive ligand - receptor interaction)和细胞功能调节(apoptosis, regulation of actin cytoskeleton)等方面。

4 讨论

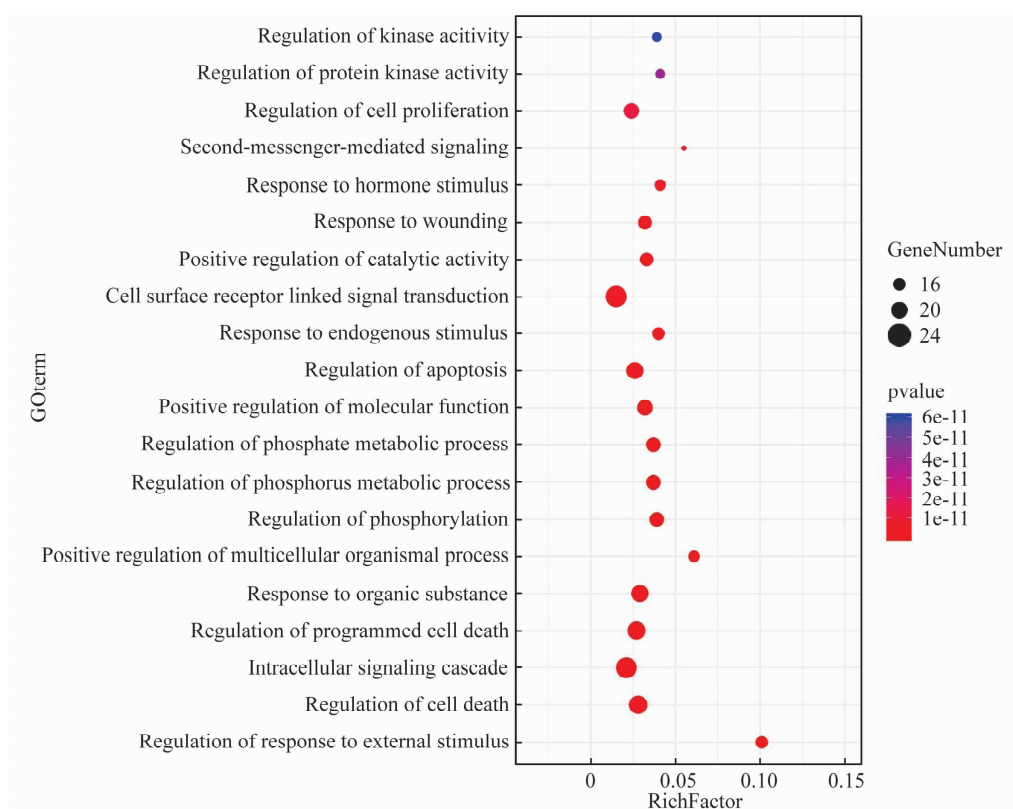
SONFH 属于中医学理论中“骨蚀”“骨痹”“骨痿”范畴。中医学理论认为,激素为辛热之品,长期使用患者易出现畏寒、无力、皮肤苍白、食欲减退等表现,中医辨证多为肾虚(阴阳两虚)证。肾虚则温煦失职,耗精伤髓;肾阴虚则脉道失养,血行不畅;从而肾虚、血瘀并存,导致股骨头坏死,故激素所致股骨头坏死多为肾虚血瘀证,治疗遵循补肾壮骨、活血化瘀的原则^[9]。补肾活血汤以“肾主骨,生髓”“血行则瘀自去”等理论为依据,方中熟地黄、肉桂补肾活血为君药;淫羊藿、补骨脂、牛膝补益肝肾、强壮筋骨,独活、桑寄生祛风除湿,当归、丹参补血活血、化瘀止痛,川芎、乳香、没药活血祛瘀、通络止痛,共为臣药;白术补脾燥湿为佐药;甘草调和诸药为使药。全方共奏补益肝肾、强壮筋骨、活血化瘀止痛的功效。

结合 GO 与 KEGG 富集分析结果,排除泛宽信号通路,我们推测补肾活血汤主要通过调节 TLR4/NF- κ B(属于 TLR 信号通路)、VEGF 信号通路这 2 个通路发挥补肾壮骨、活血化瘀的功效。TLR4/NF- κ B 是一种重要的转录信号分子,可以调节多种炎症相关基因的表达。一方面,TLR4/NF- κ B 信号通路能够抑制成骨细胞分化。Muthukuru 等^[20]研究发现,激活 TLR4 可明显促进炎症因子 IL-1 β 的分泌,对成骨无明显的促进作用,但加入 TLR4 的拮抗剂 Pg1449 后则可明显促进成骨分化。骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)是已知的具有较

强促进成骨细胞分化和骨生成能力的刺激因子,但即使在 BMP-2 刺激后,TLR4 被激活仍可显著抑制成骨细胞分化,提示 TLR4 对成骨分化有极强的抑制作用^[21]。Pei 等^[22]认为,TLR4/NF- κ B 的过度激活可以抑制成骨分化关键通路的 Wnt/ β -catenin 途径并导致大鼠 SONFH。另一方面,TLR4/NF- κ B 是破骨细胞增殖、活化的重要信号通路。TLR4/NF- κ B 信号通路能够引起单核-巨噬细胞的增殖,并最终形成破骨细胞^[23]。大剂量激素可抑制破骨细胞凋亡,延长其生存周期,促进骨吸收^[24]。现代药理研究已发现,补肾活血汤中君药肉桂和臣药没药所含肉桂醛、

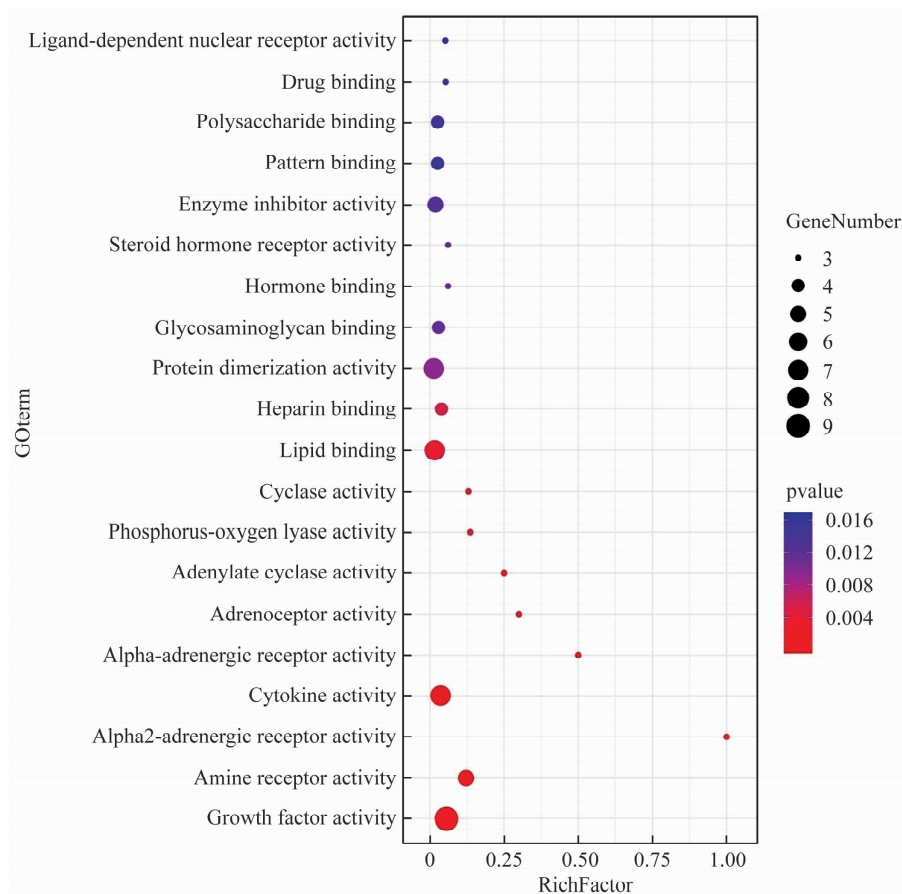
地黄中所含 2,5-二羟基苯乙酮能抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路发挥抗炎作用^[25-26],因此我们推测补肾活血汤“补肾壮骨”作用与抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路关系密切。

作为重要的成血管信号通路,VEGF 信号通路在股骨头坏死发病、病理演变中发挥作用。血管生成与股骨头坏死发病相关。Wang 等^[27]研究发现,激素可抑制毛细血管再生,并促使其退化和闭合,使局部血液灌注量减少。同时,糖皮质激素可以抑制内皮细胞活性,导致骨坏死和体内新血管形成减少等,进一步加重骨组织血循环的损害,抑制骨组织细胞代谢,进



regulation of kinase activity:调节激酶活性;regulation of protein kinase activity:调节蛋白激酶活性;regulation of cell proliferation:调节细胞增殖;second-messenger-mediated signaling:第二信使信号;response to hormone stimulus:激素刺激反应;response to wounding:损伤反应;positive regulation of catalytic activity:正向调节催化活性;cell surface receptor linked signal transduction:细胞表面受体连接信号转导;response to endogenous stimulus:内源性刺激反应;regulation of apoptosis:调节细胞凋亡;positive regulation of molecular function:正调控分子功能;regulation of phosphate metabolic process:调节磷酸盐代谢过程;regulation of phosphorus metabolic process:调控磷代谢过程;regulation of phosphorylation:调控磷酸化;positive regulation of multicellular organismal process:正调节多细胞生物过程;response to organic substance:对有机物的反应;regulation of programmed cell death:调控细胞程序性死亡;intracellular signaling cascade:细胞内的信号级联;regulation of cell death:调节细胞死亡;regulation of response to external stimulus:调节外部刺激反应

图2 补肾活血汤治疗激素性股骨头坏死核心靶点 GO 生物过程富集分析结果



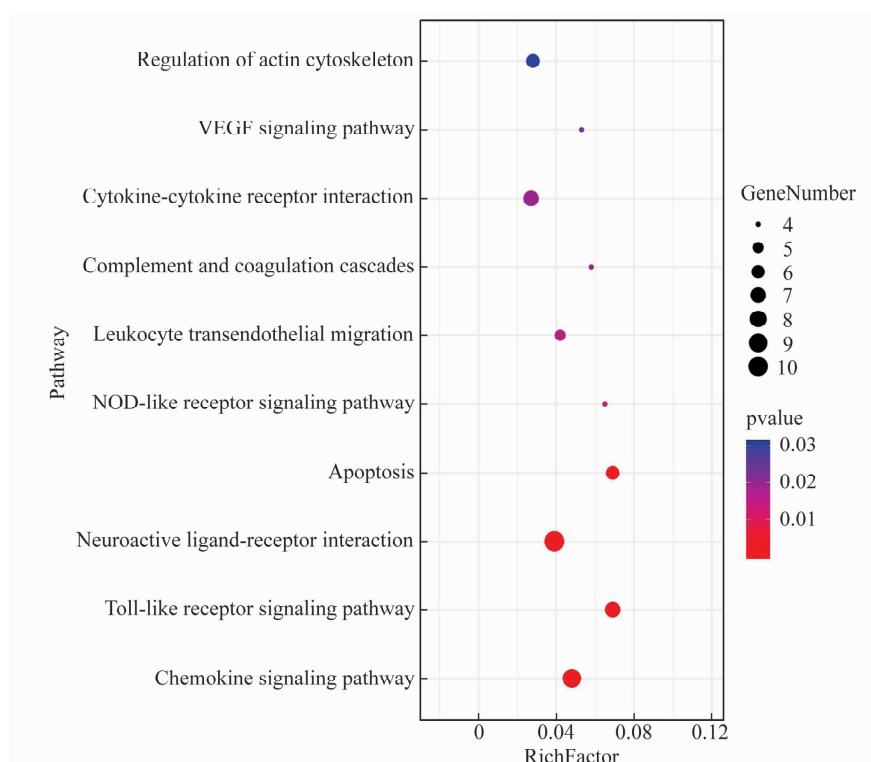
ligand – dependent nuclear receptor activity: 配体依赖性核受体活性; drug binding: 药物结合; polysaccharide binding: 多糖结合; pattern binding: 模式结合; enzyme inhibitor activity: 酶抑制剂活性; steroid hormone receptor activity: 类固醇激素受体活性; hormone binding: 激素结合; glycosaminoglycan binding: 糖胺聚糖结合; protein dimerization activity: 蛋白质二聚活性; heparin binding: 肝素结合; lipid binding: 脂质结合; cyclase activity: 环化酶活性; phosphorus – oxygen lyase activity: 磷氧裂合酶类活性; adenylate cyclase activity: 腺苷酸环化酶活性; adrenoceptor activity: 肾上腺素能受体活性; alpha – adrenergic receptor activity: α – 肾上腺能受体活性; cytokine activity: 细胞因子活性; alpha 2 – adrenergic receptor activity: $\alpha 2$ 肾上腺能受体活性; amine receptor activity: 胺受体活性; growth factor activity: 生长因子活性

图 3 补肾活血汤治疗激素性股骨头坏死核心靶点 GO 分子功能富集分析结果

而抑制坏死骨组织细胞的修复重建,导致坏死范围扩大^[28-29]。VEGF 是一种对血管形成具有特异性的重要生长因子^[30],能够加强微血管通透性,促进血浆纤维蛋白外渗,沉积于血管外基质中,为血管生成过程中的多种细胞迁移提供纤维网架^[31]。Li 等^[32]观察发现,股骨头坏死晚期 VEGF 在坏死区不能被检测到,而在修复交界区仍可被检测到。Hong 等^[33]通过 Meta 分析证实,VEGF 基因 - 634G/C 多态性与股骨头坏死的发生有显著性关联。Hang 等^[34]发现,转入 VEGF165 基因的 MSCs 可以明显增强股骨头坏死杂交犬的骨重建和血管再生。

Gao 等^[35]则直接将 VEGFR2 (VEGF 的受体) 注入大鼠髋关节关节囊,成功获得一种股骨头坏死大鼠模型,证实 VEGFR2 在股骨头坏死发病中扮演重要角色。同时我们还发现,补肾活血汤中丹参、当归、川芎等臣药均含有 VEGF 通路的作用靶点。故我们认为补肾活血汤的活血化瘀作用与上调 VEGF 信号通路关系密切。

结合 SONFH 的病理机制,排除缺乏特异性的信号通路,我们推测补肾活血汤通过调节 TLR4/NF – κ B 和 VEGF 信号通路发挥补肾壮骨、活血化瘀的功效,这可能是其治疗 SONFH 的作用机制之一。



regulation of actin cytoskeleton: 调节肌动蛋白骨架; VEGF signaling pathway: 血管内皮生长因子信号通路; cytokine - cytokine receptor interaction: 细胞因子受体相互作用; complement and coagulation cascades: 补体和凝血级联; Leukocyte transendothelial migration: 白细胞跨内皮迁移; NOD - like receptor signaling pathway: 类节点受体信号通路; apoptosis: 细胞凋亡; neuroactive ligand - receptor interaction: 神经活性配体 - 受体相互作用; Toll - like receptor signaling pathway: Toll 样受体信号通路; Chemokine signaling pathway: 趋化因子信号通路

图 4 补肾活血汤治疗激素性股骨头坏死核心靶点 KEGG 通路富集分析结果

参考文献

- [1] 中华老年骨科与康复电子杂志编辑委员会. 股骨头坏死保髋治疗指南(2016 版)[J]. 中华老年骨科与康复电子杂志, 2016, 2(2): 65 - 70.
- [2] CUI L, ZHUANG Q, LIN J, et al. Multicentric epidemiologic study on six thousand three hundred and ninety five cases of femoral head osteonecrosis in China[J]. Int Orthop, 2016, 40(2): 267 - 276.
- [3] ZHAO D W, YU M, HU K, et al. Prevalence of Nontraumatic osteonecrosis of the femoral head and its associated risk factors in the Chinese population: results from a nationally representative survey [J]. Chin Med J (Engl), 2015, 128(21): 2843 - 2850.
- [4] ZHANG Q, YANG F, CHEN Y, et al. Chinese herbal medicine formulas as adjuvant therapy for osteonecrosis of the femoral head: a systematic review and meta - analysis of randomized controlled trials [J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(36): e12196.
- [5] 陈雷雷, 何伟, 张庆文, 等. 中医药治疗股骨头坏死临床试验的系统评价[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(3): 710 - 715.
- [6] 杨公博, 朱立国, 何佩珊, 等. 中药补肾活血汤治疗老年肾虚型腰椎间盘突出症的临床研究[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(2): 604 - 606.
- [7] 何伟, 陈镇秋, 张庆文. 补肾活血中药治疗股骨头坏死临床研究[J]. 新中医, 2012, 44(4): 50 - 51.
- [8] 帅波, 沈霖, 杨艳萍, 等. 补肾活血方治疗早期缺血性股骨头坏死患者的临床研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2013, 21(1): 11 - 14.
- [9] 张超, 姚晨, 沈计荣. 微创髓芯减压打压支撑植骨术结合补肾活血汤口服治疗 ARCO II、III 期股骨头坏死的近期疗效观察[J]. 中医正骨, 2016, 28(3): 20 - 23.
- [10] 姚晨, 沈计荣, 杜斌, 等. 口服补肾活血汤联合微创保髋术治疗股骨头坏死肾虚血瘀证的临床研究[J]. 中医正骨, 2016, 28(11): 7 - 12.
- [11] 夏天卫, 刘金柱, 施乐, 等. 补肾活血汤治疗早期股骨头坏死的症状转归及作用机制分析[J]. 中外医学研究, 2019, 17(22): 47 - 49.
- [12] 魏伟, 沈计荣, 姚晨, 等. 旋转截骨术配合口服补肾活血汤治疗中青年 ARCO III 期股骨头骨坏死的近期疗

- 效[J]. 世界中医药, 2019, 14(4): 936-940.
- [13] 李业清. 髋关节外科脱位死骨清理打压植骨联合补肾活血汤治疗股骨头坏死 ARCO III_A ~ III_B 期临床研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2017.
- [14] 许芝俊. 打压植骨术联合补肾活血汤治疗股骨头坏死的临床研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2016.
- [15] 刘志华, 孙晓波. 网络药理学: 中医药现代化的新机遇[J]. 药学学报, 2012, 47(6): 696-703.
- [16] LIU C X, LIU R, FAN H R, et al. Network pharmacology bridges traditional application and modern development of traditional Chinese medicine [J]. Chin Herb Med, 2015, 7(1): 3-17.
- [17] 谢盈斌, 刘璐, 李渊芳, 等. 基于网络药理学的四妙勇安汤在血管新生中的作用机制研究[J]. 中草药, 2018, 49(18): 4319-4330.
- [18] 刘艳飞, 孙明月, 赵莹科, 等. 网络药理学在中药药物重定位研究中的应用现状与思考[J]. 中国循证医学杂志, 2017, 17(11): 1344-1349.
- [19] 王琳珊, 靳会欣, 董占军. 系统药理学研究方法在中药不良反应研究中的应用进展[J]. 中国药房, 2017, 28(35): 5033-5036.
- [20] MUTHUKURU M, DARVEAU R P. TLR signaling that induces weak inflammatory response and SHIP1 enhances osteogenic functions[J]. Bone Res, 2014, 2(4): 218-230.
- [21] HUANG R L, YUAN Y, ZOU G M, et al. LPS-stimulated inflammatory environment inhibits BMP-2-induced osteoblastic differentiation through crosstalk between TLR4/MyD88/NF- κ B and BMP/Smad signaling[J]. Stem Cells Dev, 2014, 23(3): 277-289.
- [22] PEI J, FAN L, NAN K, et al. Excessive activation of TLR4/NF- κ B interactively suppresses the canonical Wnt/ β -catenin pathway and induces SANFH in SD rats[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 11928.
- [23] TIAN L, ZHOU D, WANG K, et al. Association of toll-like receptor 4 signaling pathway with steroid-induced femoral head osteonecrosis in rats[J]. J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci, 2014, 34(5): 679-686.
- [24] WEINSTEIN R S, JILKA R L, ALMEIDA M, et al. Intermittent parathyroid hormone administration counteracts the adverse effects of glucocorticoids on osteoblast and osteocyte viability, bone formation, and strength in mice[J]. Endocrinology, 2010, 151(6): 2641-2649.
- [25] TIANWEI XIA, JIRONG SHEN, RUNZI GAO, et al. Trans-cinnamaldehyde inhibits IL-1 β -stimulated inflammation in chondrocytes by suppressing NF- κ B and p38-JNK pathways and exerts chondrocyte protective effects in a rat model of osteoarthritis[J]. Biomed Res Int, 2019 [2020-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6530235/>.
- [26] HAN Y, JUNG H W, LEE J Y, et al. 2,5-dihydroxyacetophenone isolated from rehmanniae radix preparata inhibits inflammatory responses in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages[J]. J Med Food, 2012, 15(6): 505-510.
- [27] WANG C, PENG J, LU S. Summary of the various treatments for osteonecrosis of the femoral head by mechanism: a review[J]. Exp Ther Med, 2014, 8(3): 700-706.
- [28] WEI LI, ZILIANG YE, WEI WANG, et al. Clinical effect of hyperbaric oxygen therapy in the treatment of femoral head necrosis: a systematic review and meta-analysis[J]. Orthopaed, 2016, 46(5): 440-446.
- [29] TROUSDALE R T. Femoral Head resurfacing for the treatment of osteonecrosis in the young patient[J]. Clin Orthop Relat Res, 2004, 425(417): 290-291.
- [30] GALE N W, YANCOPOULOS G D. Growth factors acting via endothelial cell-specific receptor tyrosine kinases: VEGFs, angiopoietins, and ephrins in vascular development[J]. Genes Dev, 1999, 3(9): 1055-1066.
- [31] CHEN Y, MATHY N W, LU H. The role of VEGF in the diagnosis and treatment of malignant pleural effusion in patients with non-small cell lung cancer (Review) [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(6): 8019-8030.
- [32] LI W, SAKAI T, NISHII T, et al. Distribution of TRAP-positive cells and expression of HIF-1 α , VEGF, and FGF-2 in the reparative reaction in patients with osteonecrosis of the femoral head[J]. J Orthop Res, 2009, 27(5): 694-700.
- [33] HONG G J, LIN N, CHEN L L, et al. Association between vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and the risk of osteonecrosis of the femoral head: systematic review[J]. Biomed Rep, 2016, 4(1): 92-96.
- [34] HANG D, WANG Q, GUO C, et al. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with VEGF165 transgenic bone marrow mesenchymal stem cells in mongrel dogs[J]. Cells Tissues Organs, 2012, 195(6): 495-506.
- [35] GAO Y S, WANG H F, DING H, et al. A novel rat model of osteonecrosis of the femoral head induced by periarticular injection of vascular endothelial growth factor receptor 2 antibody[J]. J Surg Res, 2013, 183(1): e1-e5.

(收稿日期: 2020-02-12 本文编辑: 李晓乐)