

本文引用:姚金龙,冯海波,李益亮,叶心雨,孙绍裘,刘晓岚. 桃红四物汤对 ANFH 模型大鼠 Notch1 受体蛋白表达的影响:骨伤名师孙达武学术思想与临床经验研究(三)[J]. 湖南中医药大学学报,2022,42(5):709-714.

# 桃红四物汤对 ANFH 模型大鼠 Notch1 受体蛋白表达的影响

## ——骨伤名师孙达武学术思想与临床经验研究(三)

姚金龙<sup>1,2</sup>,冯海波<sup>1,2\*</sup>,李益亮<sup>1,2</sup>,叶心雨<sup>2</sup>,孙绍裘<sup>1,2</sup>,刘晓岚<sup>1\*</sup>

(1.湖南中医药大学第二附属医院,湖南长沙 410005;2.湖南中医药大学,湖南长沙 410208)

**〔摘要〕**目的 观察桃红四物汤对创伤性股骨头缺血性坏死(avascular necrosis of femoral head, ANFH)模型大鼠 Notch1 受体蛋白表达的影响。**方法** 从 60 只 SD 实验大鼠中随机挑选 12 只为假手术组,其余大鼠参照 Norman 方法进行造模构建 ANFH 模型,然后随机均分为桃红四物汤高剂量组、桃红四物汤中剂量组、桃红四物汤低剂量组、模型组,每组 12 只,对于假手术组,采用同样的术式显露髋关节,但是不进行造模而是直接缝合。待大鼠造模成功后,给予桃红四物汤高、中、低剂量组等量的高、中、低剂量桃红四物汤进行灌胃,模型组与假手术组分别予以等量的生理盐水进行灌胃。灌胃 8 周后处死各组大鼠,切取股骨头,采用 Micro-CT 观察各组大鼠股骨头形态变化,光镜下计算出股骨头平均空骨陷窝率,采用免疫组织化学法检测 Notch1 受体蛋白的表达水平。**结果** 通过 Micro-CT 观察,桃红四物汤各组较模型组股骨头软骨面损伤情况好,并且随着药物浓度的增加,桃红四物汤中、高剂量组较桃红四物汤低剂量组股骨头塌陷情况好。光学显微镜下观测,桃红四物汤各组大鼠平均空骨陷窝率均低于模型组( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ),高于假手术组( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ),而 Notch1 受体蛋白表达高于模型组和假手术组( $P<0.05$  或  $P<0.01$ );桃红四物汤低剂量组大鼠平均空骨陷窝率高于桃红四物汤高、中剂量组( $P<0.05$ ),而 Notch1 受体蛋白表达低于桃红四物汤中、高剂量组( $P<0.05$ )。桃红四物汤高、中剂量组大鼠平均空骨陷窝率以及 Notch1 受体蛋白表达比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** 桃红四物汤能降低 ANFH 大鼠空骨陷窝率,治疗 ANFH,并且该过程可能与桃红四物汤促进 Notch1 受体蛋白的表达有关。

**〔关键词〕** 桃红四物汤;股骨头缺血性坏死;大鼠;空骨陷窝率;Notch1 受体

**〔中图分类号〕** R274.9

**〔文献标志码〕** A

**〔文章编号〕** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.05.003

### Effect of Taohong Siwu Decoction on the expression of Notch1 receptor protein in ANFH model rats: Study on the academic thoughts and clinical experience of famous orthopaedic teacher Sun Dawu (3)

YAO Jinlong<sup>1,2</sup>, FENG Haibo<sup>1,2\*</sup>, LI Yiliang<sup>1,2</sup>, YE Xinyu<sup>2</sup>, SUN Shaoqiu<sup>1,2</sup>, LIU Xiaolan<sup>1,2\*</sup>

(1. The Second Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410005, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

**〔Abstract〕 Objective** To observe the effect of Taohong Siwu Decoction on the expression of Notch1 receptor protein in rats with avascular necrosis of femoral head (ANFH). **Methods** 12 SD rats were randomly selected from 60 SD rats as the sham operation group, and the other rats were modeled by Norman method to construct ANFH model, and then randomly divided into Taohong Siwu Decoction high-dose group, Taohong Siwu Decoction medium-dose group, Taohong Siwu Decoction low-dose group and model

**〔收稿日期〕** 2021-11-12

**〔基金项目〕** 湖南省自然科学基金项目(2019JJ50458);湖南省科技创新计划项目(2018SK51103);湖南省中医骨伤临床医学研究中心项目(2020SK4013);湖南省教育厅优秀青年项目(20B447);湖南中医药大学校级科研联合项目(2020XJJ054)。

**〔第一作者〕** 姚金龙,男,医师,硕士,研究方向:中医药防治骨伤科疾病。

**〔通信作者〕** \*冯海波,男,博士研究生,主治医师,E-mail:695038786@qq.com;刘晓岚,男,主任医师,E-mail:13627489118@163.com。

group, with 12 rats in each group. For the sham operation group, the hip joint was exposed using the same operation, but the hip joint was directly sutured without modeling. After successful modeling, the rats were given Taohong Siwu Decoction high-dose, medium-dose and low-dose groups of equal amount of high, medium and low dose Taohong Siwu Decoction for intragastric administration, model group and sham operation group were given equal amount of normal saline intragastric administration. After 8 weeks of intragastric administration, the rats in each group were sacrificed, and the femoral head was cut. Micro-CT was used to observe the morphological changes of the femoral head in each group, the average rate of hollow lacunae of the femoral head was calculated under light microscope, and the expression of Notch1 receptor protein was detected by immunohistochemistry. **Results** By Micro-CT observation, the femoral head cartilage damage was better in each group of Taohong Siwu Decoction than in model group, and with the increase of concentration, the femoral head collapse was better in Taohong Siwu Decoction medium-dose and high-dose groups than in Taohong Siwu Decoction low-dose group. Under a light microscope, the average rate of hollow lacunae of each group of Taohong Siwu Decoction was lower than that of model group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), and higher than that of sham operation group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), and the expression of Notch1 receptor protein was higher than that of model group and sham operation group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). The average rate of hollow lacunae in Taohong Siwu Decoction low-dose group was higher than that in Taohong Siwu Decoction high-dose and medium-dose groups ( $P<0.05$ ), and the expression of Notch1 receptor protein was lower than that in Taohong Siwu Decoction medium-dose and high-dose groups ( $P<0.05$ ). There were no significant differences in the average rate of hollow lacunae and Notch1 receptor protein expression between Taohong Siwu Decoction high-dose and medium-dose groups ( $P>0.05$ ). **Conclusion** Taohong Siwu Decoction can reduce the rate of hollow lacunae in ANFH rats and treat ANFH, and this process may be related to Taohong Siwu Decoction promoting the expression of Notch1 receptor protein.

[**Keywords**] Taohong Siwu Decoction; avascular necrosis of femoral head; rats; rate of hollow lacunae; Notch1 receptor

创伤性股骨头缺血性坏死(avascular necrosis of femoral head, ANFH)是指创伤所引起的股骨头血液循环的障碍,骨细胞、软骨细胞因缺血缺氧而导致裂解死亡,因而造成患者髋关节活动障碍,甚至跛行的疾病<sup>[1]</sup>。流行病学调查结果显示,近年来随着交通的发展,高能量损伤发生越来越频繁,ANFH的发病率也逐年上升<sup>[2]</sup>。髋关节脱位及其周围骨折,使得患者5年内出现不同程度的ANFH,发病率已经上升至50%<sup>[3]</sup>。ANFH致残率高并且并发症多,因此,往往会给患者及其家庭带来灾难性的后果<sup>[4]</sup>。而且,随着高能量损伤的年轻化,后期二次手术甚至多次手术进行髋关节翻修的可能性大,因此,保髋治疗成为了年轻ANFH患者的首选方式<sup>[5]</sup>。多项研究表明<sup>[6-7]</sup>,保髋治疗的关键在于改善股骨头周围的血运。近年来,中医药对于改善股骨头周围血运,促进骨质新生的效果显著,受到了越来越多的关注。国家级名中医孙达武临床常用桃花四物汤治疗ANFH,本研究团队的前期研究表明,桃红四物汤在改善股骨头周围的血运,促进血管新生中有着特有的优势<sup>[8-9]</sup>。研究证实,Notch1信号通路在生物进化过程中是一条高度保守的信号通路,它与血管内皮细胞生长、增殖、迁徙、分化以及死亡都密切相关<sup>[10]</sup>。本实验通过对ANFH模型大鼠施以桃红四物汤以后,观察血清中Notch1受体蛋白表达情况以及股骨头形态的变化,

探讨桃红四物汤防治ANFH的具体作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

实验动物为湖南中医药大学医学动物实验研究中心统一购买的SPF级SD大鼠,实验动物许可证号为SCXK(湘)2017-0003,实验动物伦理编号为LL2019100906,动物为6月龄SD大鼠,体质量250~300 g,雌雄各30只,动物实验中切实遵循动物实验伦理章程,并且在遵守实验室相关规章制度下进行实验,普通饲料饲养,饮水自由,实验室温控在20~25℃,湿度保持在50%~70%,每日光照时长为12 h。

### 1.2 实验试剂

桃红四物汤参照吴谦《医宗金鉴》书中所记载的药物配伍剂量:桃仁20 g,红花10 g,生地黄20 g,赤芍20 g,当归20 g,川芎10 g。所有药材均为湖南中医药大学第二附属医院药剂科购买、煎煮、制成汤剂。水合氯醛(批号:19XS09R23,100 mL/瓶,福州文莱生物科技有限公司),青霉素钠注射液(批号:150062659,产品规格:400万U×50瓶/盒,山东圣旺药业股份有限公司)。

### 1.3 主要仪器

光学显微镜(型号:PH50,深圳市西派客光学显微镜有限公司);显微镜数码成像系统(型号:

DM900,北京莱博公司);超微量分光光度计(上海鼎科科学仪器有限公司);生物组织切片机(型号:JK-TBP-3AB,上海精密仪器仪表有限公司);手动轮转式石蜡切片机(型号:CUT4062,德国LABSTAR公司);Micro-CT(型号:Quantum GX,美国PerkinElmer公司)。

#### 1.4 分组与造模

60只SD实验大鼠中随机挑选出12只,为假手术组,其余大鼠参照Norman方法<sup>[11]</sup>进行造模构建ANFH模型。术前对大鼠禁食、水6h,先按照1%戊巴比妥钠0.02 mL/100 g对大鼠进行腹腔麻醉。麻醉满意后,将大鼠俯卧位固定于手术台上,采用背侧入路沿着大转子上下切开2 cm切口,逐层暴露浅筋膜、臀中肌、股骨头圆韧带。切断股骨头圆韧带,脱出髋关节,暴露股骨头,破坏股骨头周围血运,最后冲洗,逐层缝合伤口。然后将大鼠随机均分为桃红四物汤高/中/低剂量组、模型组以及假手术组,每组12只,对于假手术组,采用同样的术式显露髋关节,但是不剪断股骨头圆韧带,不破坏股骨头周围血运,直接缝合。待大鼠造模成功后,给予桃红四物汤高、中、低剂量组等量的高、中、低剂量桃红四物汤灌胃,模型组与假手术组分别予以等量的生理盐水进行灌胃。术后3 d内每天给予大鼠肌内注射青霉素5万U预防感染。大鼠造模后,灌胃过程中桃红四物汤低剂量组、桃红四物汤中剂量组、模型组脱落死亡大鼠1只,桃红四物汤高剂量组脱落死亡大鼠2只。大鼠行为上出现跛行,大体上出现股骨关节面塌陷,Micro-CT出现轮廓清晰的坏死灶,软骨下骨折则提示造模成功<sup>[12]</sup>。

#### 1.5 干预方法

造模后4周,首先从每组大鼠随机选取2只,切取术侧股骨头,从大体上并且结合Micro-CT观察造模是否成功。确保造模成功后,每只大鼠每日两次(分别为9:00点和16:00点)灌胃,灌胃8周。药物具体剂量参照实验动物与人体表面积计算方法进行计算<sup>[13]</sup>:(1)桃红四物汤低剂量组每日给予桃红四物汤9 g/kg进行灌胃;(2)桃红四物汤中剂量组每日给予桃红四物汤18 g/kg进行灌胃;(3)桃红四物汤高剂量组每日给予桃红四物汤36 g/kg进行灌胃;(4)模型组每日给予等量生理盐水灌胃;(5)假手术组每日给予等量生理盐水灌胃。

#### 1.6 观察指标及检测方法

1.6.1 股骨头Micro-CT检查 大鼠麻醉后处死,切取术侧股骨头标本行Micro-CT检查,观察股骨头形

状、大小以及关节软骨表面情况。X线扫描参数:电压90 kV,电流88  $\mu$ A,体素尺寸72  $\mu$ m,曝光时间14 min,高分辨率扫描模式。

#### 1.6.2 大鼠股骨头标本Notch1受体蛋白表达测定

取出大鼠股骨头标本后,采用免疫组织化学法行样品制备、抗原修复、背景封闭等步骤测定Notch1受体蛋白的平均光密度。具体步骤:切片后予以石蜡保存,然后经过脱蜡、磷酸盐缓释液以及蒸馏水漂洗后,进行孵育。最后对股骨头成骨细胞用苏木精-伊红进行染色,凝胶封存。

1.6.3 大鼠股骨头标本空骨陷窝率测定 对于股骨头余下标本,先用甲醛固定后再应用5%的硝酸进行脱钙处理,随后进行漂洗、包埋、切片,染色后置于高倍镜下观察股骨头空骨陷窝情况,然后进行记录、统计分析。给予每1张标本进行5次切片处理,然后随机从每张切片选取50个骨陷窝中读取空骨陷窝数。

空骨陷窝率=(空骨陷窝平均数/50) $\times$ 100%<sup>[14]</sup>。

#### 1.7 统计学处理

采用SPSS 23.0统计软件对数据进行处理。当数据满足正态性、方差齐性时,组间比较采用单因素方差分析,多重比较采用LSD法;当方差不齐时,采用Dunnett's T3检验;当数据不满足正态性,采用秩和检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 影像学Micro-CT检查

通过药物干预后发现:ANFH模型大鼠灌胃8周后,可见模型组骨小梁紊乱,可见普遍断裂,骨质较少,股骨头塌陷明显;桃红四物汤组相对模型组而言骨质有所改善,骨小梁有局部性修复,骨小梁和骨性结构有明显改善;假手术组骨小梁排列整齐、有序,骨质紧密,股骨头光滑无塌陷;桃红四物汤高、中剂量组较桃红四物汤低剂量组骨质修复更为明显。详见图1-5。

### 2.2 各组大鼠Notch1受体平均光密度比较

灌胃8周后,桃红四物汤高、中、低剂量组Notch1受体表达均明显高于假手术组和模型组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );桃红四物汤高、中剂量组Notch1受体表达均明显高于桃红四物汤低剂量组( $P<0.05$ );假手术组大鼠Notch1受体表达与模型组比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );桃红四物汤高、中剂量组大鼠Notch1受体表达比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。详见表1、图6。

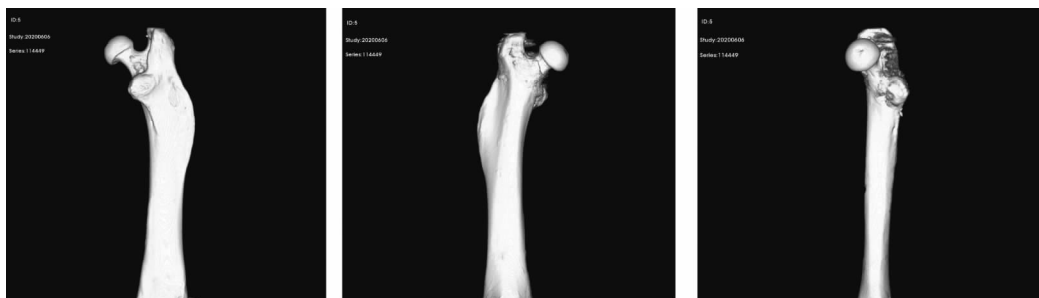


图 1 假手术组股骨头正侧位 micro-CT



图 2 桃红四物汤高剂量组股骨头正侧位 micro-CT



图 3 桃红四物汤中剂量组股骨头正侧位 micro-CT



图 4 桃红四物汤低剂量组股骨头正侧位 micro-CT



图 5 模型组股骨头正侧位 micro-CT



表1 各组大鼠药物干预8周后 Notch1 受体  
平均光密度比较( $\bar{x}\pm s, \mu\text{m}$ )

组别	n	Notch1 受体
桃红四物汤低剂量组	9	0.48±0.05* <sup>△</sup>
桃红四物汤中剂量组	9	0.65±0.03** <sup>△△#</sup>
桃红四物汤高剂量组	8	0.66±0.02** <sup>△△#</sup>
模型组	9	0.32±0.05
假手术组	10	0.35±0.05
F 值		127.742
P 值		<0.001

注:与模型组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与假手术组比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ ,<sup>△△</sup> $P<0.01$ ;与桃红四物汤低剂量组,<sup>#</sup> $P<0.05$ 。

### 2.3 各组大鼠空骨陷窝率比较

干预后,桃红四物汤高、中、低剂量组、假手术组空骨陷窝率均明显低于模型组( $P<0.05$  或  $P<0.01$ );桃红四物汤高、中、低剂量组空骨陷窝率明显高于假手术组( $P<0.05$  或  $P<0.01$ );桃红四物汤高、中剂量组空骨陷窝率均明显低于桃红四物汤低剂量组( $P<0.05$ );桃红四物汤高、中剂量组空骨陷窝率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。详见表2。

表2 各组大鼠药物干预8周后空骨陷窝率比较( $\bar{x}\pm s, \%$ )

组别	n	空骨陷窝率
桃红四物汤低剂量组	9	36.53±2.67* <sup>△△</sup>
桃红四物汤中剂量组	9	27.24±0.65** <sup>△△#</sup>
桃红四物汤高剂量组	8	26.15±0.95** <sup>△△#</sup>
模型组	9	49.00±0.42
假手术组	10	9.87±0.90**
F 值		1040.751
P 值		<0.001

注:与模型组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与假手术组,<sup>△</sup> $P<0.05$ ,<sup>△△</sup> $P<0.01$ ;与桃红四物汤低剂量组,<sup>#</sup> $P<0.05$ 。

## 3 讨论

ANFH 是临床上十分常见的疾病,导致的主要原因是由于受到巨大的暴力后所引起的股骨头局部的血运破坏,如髋关节脱位、股骨颈骨折等<sup>[15]</sup>。旋股内侧动静脉发出的上支持带血管是股骨头血液供应的主要来源,它供应股骨头下内侧 2/3 的血运。股骨头的血液还有旋股外侧动静脉、头凹动静脉、滋养血管等,但是血管之间侧枝循环匮乏,彼此交通联系少,因此,当一支血管损伤时往往难以依靠其他血管代偿来完成股骨头的血液供应,特别是当旋股内侧动静脉损伤时,股骨头极易因为缺少血液供应,而发生骨坏死<sup>[16]</sup>。因此,改善股骨血运往往就成为了保髋治疗 ANFH 的关键。

ANFH 主要出现的临床症状有髋关节疼痛、患肢跛行、活动障碍等,属于中医学“骨痹”“骨痿”“骨蚀”等范畴。中医学认为,气血是骨的重要营养来源,而外伤导致伤筋断骨破坏人体气机,损伤人体血脉,血溢脉外,“离经之血便是瘀”,瘀血又作为病理产物,导致气滞血瘀,筋骨失去濡养而出现坏死。《素问·宣明五气》云:“血气不和,则变生百病。”中医学治疗骨痹早期以活血化瘀为主。桃红四物汤作为活血化瘀的经典方剂,历来被认为是治疗骨痹的代表方,被广泛用于临床上气滞血瘀型疾病的治疗<sup>[17-18]</sup>。本课题组前期已经证明,桃红四物汤能够改善 ANFH 患者髋关节功能<sup>[8]</sup>。高曦等<sup>[19]</sup>运用桃红四物汤配合手术治疗老年股骨颈骨折,结果发现能够缩短患者下床时间,降低患者血液的高凝状态,降低深静脉血栓的发生率,促进患者康复。

Notch1 受体是 Notch 信号通路之中的一个重要受体蛋白。Notch 信号通路包括受体蛋白与配体蛋

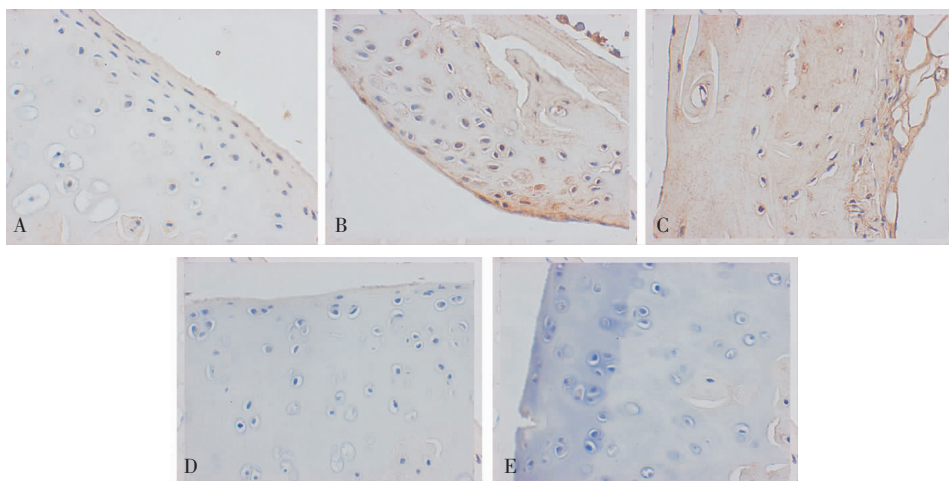


图6 桃红四物汤对 ANFH 模型大鼠 Notch1 受体蛋白表达的影响(SP,×400)

注:A.桃红四物汤低剂量组;B.桃红四物汤中剂量组;C.桃红四物汤高剂量组;D.模型组;E.假手术组。

白,配体与受体之间的信号传递,调控着成骨细胞和破骨细胞增殖以及分化,因而可以调节控制骨重建的进程<sup>[20-21]</sup>。研究证实,Notch1 信号蛋白与血管的生成密切相关<sup>[22]</sup>。刘振阳等<sup>[23]</sup>证实,Notch1 和血管内皮生长因子可能在皮肤黑色素瘤血管生成中具有协同作用,能够促进血管新生。本课题组前期研究证实,Notch1 受体在兔皮片移植模型中能够促进血管新生<sup>[24]</sup>。空骨陷窝率的升高,是早期股骨头坏死的典型征象<sup>[25]</sup>。股骨头坏死后成骨细胞较少,破骨细胞增多,微观上表现为骨小梁稀疏,结构紊乱甚至断裂,股骨头下骨小梁萎缩、稀疏、断裂,因而空骨陷窝数增多<sup>[14]</sup>。本实验结果显示:通过 Micro-CT 观察,桃红四物汤各组较模型组股骨头软骨面损伤情况好,并且随着浓度的增加,桃红四物汤中、高剂量组较桃红四物汤低剂量组股骨头塌陷情况好。而光学显微镜下观测,桃红四物汤各组大鼠空骨陷窝率均低于模型组( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ),且高于假手术组( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ),而 Notch1 受体蛋白表达高于模型组和假手术组( $P<0.05$  或  $P<0.01$ );并且随着浓度的增加,桃红四物汤低剂量组大鼠空骨陷窝率高于桃红四物汤高、中剂量组( $P<0.05$ ),而 Notch1 受体蛋白表达低于桃红四物汤中、高剂量组( $P<0.05$ )。但是,桃红四物汤高、中剂量组大鼠空骨陷窝率以及 Notch1 受体蛋白表达并无明显差异( $P>0.05$ )。

综上所述,桃红四物汤可能通过增加 Notch1 受体表达,促进股骨头血管新生,从而减少 ANFH 大鼠的股骨头空骨陷窝率,促进 ANFH 大鼠股骨头骨质的新生,但是不会随着桃红四物汤浓度的增加,其促进血管新生、促进骨质新生的能力一直增加,桃红四物汤具有促进骨质新生的最佳浓度,由于本课题实验组别数量设置有限,还未有详细探明,有待进一步开展实验研究。

## 参考文献

[1] POWELL C, CHANG C, GERSHWIN M E. Current concepts on the pathogenesis and natural history of steroid-induced osteonecrosis[J]. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 2011, 41(1): 102-113.

[2] SI L, WINZENBERG T M, JIANG Q, et al. Projection of osteoporosis-related fractures and costs in China: 2010 - 2050[J]. *Osteoporosis International*, 2015, 26(7): 1929-1937.

[3] TAKENAGA R K, CALLAGHAN J J, BEDARD N A, et al. Cementless total hip arthroplasty in patients fifty years of age or younger: A minimum ten-year follow-up[J]. *The Journal of Bone and Joint Surgery American Volume*, 2012, 94(23): 2153-2159.

[4] ZHANG Y, WEI Q S, DING W B, et al. Increased microRNA-

93-5p inhibits osteogenic differentiation by targeting bone morphogenetic protein-2[J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0182678.

[5] 中国医师协会骨科医师分会显微修复工作委员会,中国修复重建外科专业委员会骨缺损及骨坏死学组,中华医学会骨科分会显微修复学组.成人股骨头坏死临床诊疗指南(2016)[J].*中华骨科杂志*, 2016,36(15):945-954.

[6] 王杰,何其泽,孟林.保髋手术治疗股骨头坏死的研究进展[J].*局解手术学杂志*,2021,30(3):263-267.

[7] 李子荣.2015年股骨头坏死中国分期与分型解读[J].*临床外科杂志*,2017,25(8):565-568.

[8] 姚金龙,冯海波,孙绍裘.桃红四物汤治疗创伤性股骨头坏死临床疗效的观察[J].*中国医药科学*,2019,9(21):9-12,59.

[9] 朱耀,孙绍裘,李益亮,等.桃红四物汤对大鼠创伤性股骨头缺血坏死模型外周血中 EPCs 表达影响[J].*湖南中医药大学学报*, 2017,37(1):22-25.

[10] 王拯,张廷蔚,韩向龙.Notch 信号通路调控下的血管形成[J].*中国组织工程研究*,2015,19(46):7498-7503.

[11] NOWELL C S, RADTKE F. Notch as a tumour suppressor[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2017, 17(3): 145-159.

[12] 汤朔,侯德才.股骨头坏死动物模型构建:如何更接近临床应用[J].*中国组织工程研究*,2021,25(29):4691-4696.

[13] 赵伟,孙国志.不同种实验动物间用药量换算[J].*畜牧兽医学报*,2010(5):52-53.

[14] 李慧英,孟东方,阮志磊.骨碎补总黄酮对激素性股骨头坏死血钙、血磷及空骨陷窝率的影响[J].*中华中医药杂志*,2016,31(12): 5352-5354.

[15] 马剑雄,何伟伟,赵杰,等.股骨头坏死发病机制研究的最新进展[J].*中国组织工程研究*,2017,21(27):4397-4402.

[16] 张鑫杰,郭永昌,张素梅,等.成人股骨头坏死原因及发病特征研究[J].*中国民族民间医药*,2018,27(3):21-25.

[17] 朱文虎,陈国平,顾玉强.髋关节置换术结合桃红四物汤治疗髋关节疾病的临床疗效观察[J].*光明中医*,2017,32(21):3151-3153.

[18] 刘盛扶,李小林,刘俊峰.桃红四物汤加味联合依帕司他对老年糖尿病周围神经病变的临床观察[J].*湖南中医药大学学报*,2021,41(9):1431-1435.

[19] 高曦,黄朱宋,蓝锦福.桃红四物汤配合手术治疗老年股骨颈骨折的临床观察[J].*中国医药科学*,2021,11(11):83-86.

[20] 孙宏明,卢丽霞,赵刚.Notch 信号通路在骨与骨病中的研究进展[J].*中国煤炭工业医学杂志*,2014,17(6):1029-1032.

[21] ZANOTTI S, CANALIS E. Notch and the skeleton[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2010, 30(4): 886-896.

[22] 石紫云,李艳川,刘飞飞,等.Notch1 信号通路激活在低氧诱导人脐静脉内皮细胞血管形成中的作用[J].*中华细胞与干细胞杂志(电子版)*,2020,10(3):163-171.

[23] 刘振阳,陈旻静,白滨.Notch1 在皮肤黑色素瘤血管生成中的作用研究[J].*重庆医学*,2020,49(11):1799-1803.

[24] 张志,李益亮,曾景奇,等.Notch1 受体对兔皮片移植模型血管密度影响的实验研究[J].*湖南中医杂志*,2017,33(4):141-144.

[25] 贺红伦.股骨头坏死应用依降钙素联合活血健骨片的临床效果及对血钙、血磷及空骨陷窝率的影响[J].*中外医学研究*,2018,16(26):8-10.

(未完待续)

(本文编辑 贺慧斌)