

## · 基础研究 ·

# 活血通络汤对 SANFH 兔造模过程中 Notch2/DLL1/Hes1 表达的影响

王 敏<sup>1</sup> 江蓉星<sup>2</sup> 李 涛<sup>1</sup> 蔡万翔<sup>1</sup> 陈子锴<sup>1</sup> 刘 伟<sup>1</sup>

**摘要 目的** 研究活血通络汤在激素性股骨头缺血性坏死(SANFH)兔造模过程中 Notch2/Delta-like 1 (DLL1)/发状分裂相关增强子 1(Hes1)表达的影响。**方法** 将 192 只日本大耳兔随机分为 A、B、C、D 4 组,每组各 48 只。B、C、D 组运用贺西京造模法造模。D 组第 2 周开始喂服中药饲料,C 组第 3 周开始喂服中药饲料,A、B 组均喂服等量普通饲料。分别于第 2、5、8 周末抽血检测血中的 Notch2、DLL1、Hes1 基因表达值,同时做股骨头病理镜检,并计算空骨陷窝率。**结果** 第 2 周时,与 A 组比较,B 组 Notch2、DLL1、Hes1 基因表达均升高( $P < 0.01$ );与 B 组比较,C 组 Notch2 基因表达值降低( $P < 0.05$ )。与 C 组比较,D 组 Notch2 基因表达值升高( $P < 0.01$ )。第 5 周时,与 A 组比较,B 组 Notch2、Hes1 基因表达升高( $P < 0.01$ )。与 C 组比较,D 组 Notch2 基因表达下降( $P < 0.01$ )。第 8 周时,与 A 组比较,B 组 Notch2、Hes1 基因表达升高( $P < 0.01$ );与 B 组比较,C、D 组 Notch2 基因表达下降( $P < 0.05$ )。空骨陷窝率:与 A 组比较,B 组 2、5、8 周末空骨陷窝率明显升高( $P < 0.01$ ),C、D 组空骨陷窝率明显低于 B 组( $P < 0.01$ )。镜检结果:A 组骨组织形态完整、结构清晰;B 组骨小梁变细稀薄、结构紊乱、部分断裂、塌陷,脂肪细胞增多,髓腔内造血细胞减少;C 组骨小梁较粗大,未见明显裂痕,出现新生成骨细胞,髓腔内造血细胞有所减少,脂肪细胞未见大量增生;D 组骨小梁较为粗大、规则致密,见新生成骨细胞,髓腔内造血细胞较多。**结论** 活血通络汤在早、中期 SANFH 兔造模过程中通过调整 Notch 信号通路的表达从而减低 SANFH 的发生率,其机制可能与抑制 Notch2/DLL1/Hes1 信号途径的活化有关。

**关键词** 活血通络汤;激素性股骨头缺血性坏死;Notch 信号通路

Effects of Huoxue Tongluo Decoction on Expressions of Notch2/DLL1/Hes1 in Rabbit Modeling of SANFH WANG Min<sup>1</sup>, JIANG Rong-xing<sup>2</sup>, LI Tao<sup>1</sup>, CAI Wan-xiang<sup>1</sup>, CHEN Zi-kai<sup>1</sup>, and LIU Wei<sup>1</sup>  
1 Clinical College, Chengdu University of TCM, Chengdu (610075); 2 Chinese Classics Institute, Chengdu University of TCM, Chengdu (610075)

**ABSTRACT Objective** To study the effects of Huoxue Tongluo Decoction (HTD) on the expressions of Notch2/Delta-like 1 (DLL1)/Hes1 in rabbits during the process of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head (SANFH) modeling. **Methods** A total of 192 Japanese big ear rabbits were randomly divided into four groups (A, B, C and D), 48 in each. Modeling was prepared in rabbits of Group B, C, and D. Rabbits in Group D started to feed Chinese medicine forage from the second week. Those in Group C started to take Chinese medicine forage from the third week. Those in Group A and B were fed with the same amount of ordinary forage. The expressions of Notch2, DLL1, and Hes1 in blood were measured at the weekend of the 2nd, 5th, and 8th week, respectively. Meanwhile, the femoral head was pathologically examined. And the ratio of empty lacuna was calculated. **Results** At the 2nd week, compared with Group A, the expressions of Notch2, DLL1 and Hes1 gene in Group B were all increased ( $P < 0.01$ ). Compared with Group B, the expression of Notch2 gene in Group C decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with group C, Notch2 gene expression increased in Group D ( $P < 0.01$ ). At the 5th week,

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81373663);四川省科学技术厅基础课题(No. 2011JW0049)

作者单位:1. 成都中医药大学临床医学院(成都 610075);2. 成都中医药大学国学院(成都 610075)

通讯作者:江蓉星, Tel: 13668191805, E-mail: 453768680@qq.com

DOI: 10. 7661/j.cjim. 20180309. 115

compared with Group A, the expressions of Notch2 and Hes1 gene in Group B increased ( $P < 0.01$ ). Compared with group C, Notch2 gene expression decreased in Group D ( $P < 0.01$ ). At the 8th week, compared with Group A, the expressions of Notch2 and Hes1 gene in Group B increased ( $P < 0.01$ ). Compared with Group B, the expression of Notch2 gene in Group C and Group D decreased ( $P < 0.05$ ). In terms of ratio of empty lacuna: Compared with Group A, the ratio of empty lacuna in Group B increased significantly at the end of the 2nd, 5th, and 8th week ( $P < 0.01$ ). The ratio of empty lacuna in Group D and C was obviously lower than that in Group B ( $P < 0.01$ ). Microscopic examination results: In Group A, the histomorphology of the bone was complete and the structure was clear; In Group B, the bone trabeculae became thinner, structurally disorganized, partially broken and collapsed, fat cells increased, and hematopoietic cells in the marrow cavity decreased. In Group C, the bone trabeculae was thicker, no obvious fissures were observed, new osteoblasts appeared, the number of hematopoietic cells in the marrow cavity decreased, and there was no large number of hyperplasia in adipocytes. The bone trabeculae in Group D was thicker and more densely organized. Newly generated bone cells were seen, and there were more hematopoietic cells in the marrow cavity. Conclusions HTD could reduce the incidence of SANFH by regulating the expression of Notch signaling pathway in early and mid-term modeling of SANFH rabbits. The mechanism might be related to inhibiting the activation of Notch2/DLL1/Hes1 signaling pathway.

**KEYWORDS** Huoxue Tongluo Decoction; steroid-induced avascular necrosis of the femoral head; Notch signaling pathway

激素性股骨头缺血性坏死 (steroid-induced avascular necrosis of the femoral head, SANFH) 是由于长期大量的使用激素,使股骨头的血供受损而引起股骨头缺血性坏死,是骨科常见、多发且致残率极高的一种疾病,在非创伤性股骨头缺血性坏死中占首位。活血通络汤是成都中医药大学的经验方,在治疗早中期的 SANFH 有较好的临床疗效<sup>[1,2]</sup>;且本课题的前期实验已经证实了活血通络汤对早期 SANFH 家兔模型骨的修复与重建有效<sup>[3,4]</sup>。本实验通过观察活血通络汤在 SANFH 干预性治疗中与 Notch 信号通路的关系,探究 Notch2/Delta-like 1 (DLL1)/发状分裂相关增强子 1 (Hes1) 信号途径,为活血通络汤治疗 SANFH 提供更加肯定的理论依据。

## 材料与方法

1 动物 健康日本大耳兔 192 只,雄性,体重 2.0 ~ 2.5 kg,由四川大学华西医院动物实验室提供。动物合格证号:SCXK(川)2009—09。采取标准饲料喂养,室温保持舒适恒温,相对湿度在 45% ~ 65%,先适应性喂养 1 周,实验过程中善待动物,符合伦理要求(伦理号:2014-05)。

2 药物 活血通络汤是由黄芪 40 g 丹参 20 g 地龙 10 g 当归 30 g 川芎 16 g 怀牛膝 15 g 巴戟天 30 g 鸡内金 10 g 所组成。项目申请书中所述的是采用活血通络汤灌服,但在预实验中因灌服导致兔子大量死亡,影响了实验的进程,故正式实验将中药灌

服改为中药饲料喂养。委托成都市北京同仁堂加工成中药粉末,由饲料厂加工成中药饲料,中药所占比例为 20% (与灌服的药物剂量相等)。醋酸泼尼松龙(5 mL:125 mg,浙江仙琚制药厂,批号:131102),青霉素(0.48:80 万 U,哈药集团制药总厂,批号:A1311002),庆大霉素(2 mL:8 万 U,四川省长征药业股份有限公司,批号:20131112)。

3 主要试剂和仪器 氯仿(RNA 专用)、无水乙醇(AR 级),成都科龙化工试剂有限公司生产;总 RNA 抽提试剂,美国 Invitrogen 公司生产;异丙醇(RNA 专用),上海生物工程技术有限公司生产;TRIS 碱,安格斯化学公司生产;低温离心机(型号:C2500 湖南湘仪实验仪器厂生产);实时荧光定量仪、热循环仪,美国 Thermo Fisher 仪器有限公司生产;Rabbit Notch2 ELISA kit,Abcam 公司生产。电泳仪、电泳槽、化学发光凝胶成像仪,北京君意东方电泳设备有限公司;BMJ-III 型包埋机,常州郊区中威电子仪器厂;枪头、EP 管,美国 Axygen 公司生产;转轮式切片机,徕卡-2016,德国;TSJ-II 型全自动封闭式组织脱水机,常州市中威电子仪器有限公司;数码三目摄像显微镜,BA400Digital,麦克奥迪实业集团有限公司。

## 4 方法

4.1 分组与造模 适应性喂养 1 周后,精确称重,随机将 192 (本实验实际需要 96 只,因贺西京造模法<sup>[1]</sup>存在 50% 的死亡率) 只日本大耳兔分为 A、B、C、D 组,每组 48 只。造模采用贺西京造模法,从第 3 周

开始给 B、C、D 组兔臀部肌肉注射醋酸泼尼松龙 8 mg/kg, A 组兔臀部肌肉注射等量的 0.9% 氯化钠注射液, 全部动物预防性注射青霉素 8 万 U/kg, 庆大霉素 4 万 U/只, 每周 2 次, 连续注射 6 周。

4.2 给药方法与标本采集 D 组从第 2 周开始喂服中药饲料(50 g/kg, 即中药 10 g/kg, 故灌服剂量 10 mL/kg)<sup>[3,4]</sup>, 其余各组喂服普通饲料(50 g/kg), 每天 1 次, 连续 1 周。从第 3 周开始, D 组继续喂服中药饲料(50 g/kg), C 组停止喂服普通饲料, 开始喂服中药饲料(50 g/kg), A、B 组连续喂服普通饲料(50 g/kg), 每日 1 次, 连续 6 周。分别于第 2、5、8 周末随机从各组抽取 8 只兔子, 抽取兔耳缘静脉血 2 mL, 抗凝, 离心机分离(1 000 r/min, 15 min; 1 000 r/min, 10 min; 5 000 r/min, 5 min), 取白细胞和血清标本, 低温保存。处死兔子, 截取股骨头标本, 迅速放入 10% 甲醛中固定。

## 5 观测指标及检测方法

5.1 一般情况 动物精神状态、活动情况、毛发、体重、二便等。

5.2 Notch2、DLL1、Hes1 基因表达值检测 将白细胞标本组织总 RNA 进行提取鉴定, 按照试剂盒方法配置反应体系秩序加入各试剂转录合成 CDNA 进行 RT-PCR 反应。

5.3 兔股骨头的组织形态 光镜: 固定组织, 全自动脱水机各级乙醇脱水、TO 透明液透明、两次浸蜡; 包埋机常规石蜡包埋; 轮转式切片机制片; HE 染色; 切口以 TO 透明液透明, 树胶封片供镜检。电镜: 吸弃固定液, PBS 洗涤 2 次, 蔗糖溶液洗涤 1 次, 再用系列梯度酒精脱水, 临界点干燥, 选择观察面并贴于导电胶, 喷镀, 镜检。

5.4 计算空骨陷窝率 在股骨头软骨下区骨组织上随机选择 10 个高倍视野, 计算每个视野中所有骨陷窝数和空骨陷窝数, 采用公式: 空骨陷窝数/全部骨陷窝数 × 100%, 计算出空骨陷窝率。

6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件包进行统计处理, 计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK-q 检验; 计数资料采用 % 表示,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1 一般情况 C、D 两组兔的精神情况尚可, 运动较多, 毛发的光泽度下降, 体重轻微下降, 实验期间大部分都有轻度腹泻。B 组兔精神状况较差, 运动少, 毛色晦暗, 体重有明显下降, 腹泻明显。A 组兔精神情况较

好, 运动灵活, 毛发光泽, 体重逐步增加, 基本无腹泻。

2 4 组各期 Notch2、DLL1 及 Hes1 基因表达值(表 1) 第 2 周时, 与 A 组比较, B 组 Notch2、DLL1、Hes1 基因表达均升高( $P < 0.01$ ); 与 B 组比较, C 组 Notch2 基因表达值降低( $P < 0.05$ ); D 组 Notch2 基因表达降低, C、D 组 Hes1 基因表达均降低, DLL1 基因表达均升高, 但差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ); 与 C 组比较, D 组 Notch2 基因表达值升高( $P < 0.01$ ), DLL1、Hes1 基因表达下降( $P > 0.05$ )。第 5 周时, 与 A 组比较, B 组 Notch2、Hes1 基因表达升高( $P < 0.01$ ), DLL1 基因表达亦升高, 但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 与 B 组比较, C 组 Notch2、DLL1 基因表达增强、Hes1 基因表达减弱, D 组 Notch2、Hes1 基因表达减弱、DLL1 基因表达增强, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。与 C 组比较, D 组 Notch2 基因表达下降( $P < 0.01$ )。第 8 周时, 与 A 组比较, B 组 Notch2、Hes1 基因表达升高( $P < 0.01$ ), DLL1 基因表达降低, 但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 与 B 组比较, C 组 Notch2 基因表达下降( $P < 0.05$ ), DLL1、Hes1 基因表达均下降( $P > 0.05$ ), D 组 Notch2 基因表达下降( $P < 0.01$ )。与 C 组比较, D 组 Notch2、DLL1 基因表达均升高, Hes1 基因表达降低( $P > 0.05$ )。

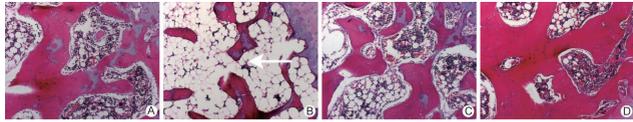
表 1 4 组各时间段 Notch2、DLL1、Hes1 基因表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	n	Notch2	DLL1	Hes1
A	第 2 周	8	0.65 ± 0.45	0.76 ± 0.41	0.36 ± 0.19
	第 5 周	8	1.17 ± 0.32	1.39 ± 0.24	0.73 ± 0.22
	第 8 周	8	1.17 ± 0.32	2.02 ± 0.33	1.03 ± 0.17
B	第 2 周	8	1.62 ± 0.19 *	1.35 ± 0.15 *	1.12 ± 0.14 *
	第 5 周	8	2.49 ± 0.61 *	1.45 ± 0.12	1.29 ± 0.48 *
	第 8 周	8	3.12 ± 0.82 *	1.90 ± 0.32	1.59 ± 0.43 *
C	第 2 周	8	1.34 ± 0.11 <sup>△</sup>	1.75 ± 0.50	1.09 ± 0.25
	第 5 周	8	2.51 ± 0.33	1.96 ± 0.47	1.27 ± 0.51
	第 8 周	8	2.29 ± 0.36 <sup>△</sup>	1.70 ± 0.37	1.25 ± 0.38
D	第 2 周	8	1.36 ± 0.30 <sup>▲</sup>	1.62 ± 0.60	1.05 ± 0.21
	第 5 周	8	2.05 ± 0.81 <sup>▲</sup>	1.75 ± 0.42	1.03 ± 0.30
	第 8 周	8	2.37 ± 1.07 <sup>△</sup>	1.82 ± 0.46	1.20 ± 0.52

注: 与 A 组同期比较, \* $P < 0.01$ ; 与 B 组同期比较, <sup>△</sup> $P < 0.05$ ; 与 C 组同期比较, <sup>▲</sup> $P < 0.01$

3 4 组股骨头病理光镜检查结果(图 1) A 组股骨头骨小梁结构、形态完整, 骨小梁的骨细胞清晰可见, 周围成骨细胞丰富, 空缺骨陷窝少见, 骨髓腔内造血细胞丰富, 形态正常, 脂肪细胞与造血组织比例均匀。B 组骨小梁明显变细, 间距增大, 结构紊乱, 部分有断裂现象, 骨髓脂肪细胞增多, 髓腔内造血细胞减少, 部分动物股骨髓腔内造血细胞完全消失, 骨细胞骨缩、边集, 空骨陷窝广泛存在。C 组关节软骨表面欠光滑, 结构基本清

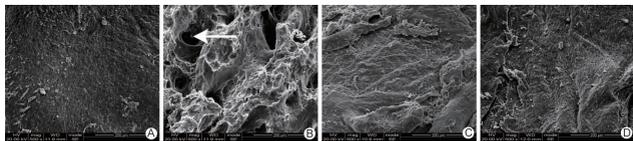
晰,关节软骨内有少量炎细胞浸润,关节软骨轻度变形,潮线模糊可见,骨小梁较粗大,排列规则,骨髓腔内造血细胞相对 A 组有所减少,脂肪细胞未见大量增生,骨细胞大部分正常,空骨陷窝较少,软骨下可见丰富血管。D 组骨小梁较为粗大,排列规则,骨髓腔内造血细胞较多,脂肪细胞未见大量增生,骨细胞大部分正常,空骨陷窝较少,软骨下可见丰富血管。



注:箭头所指为脂肪细胞

图 1 4 组股骨头病理光镜结果 (HE, ×400)

4 4 组股骨头病理电镜检结果(图 2) A 组骨组织基本正常,均可见表面光滑,布满椭圆形突起,未见塌陷、裂痕。B 组骨小梁稀疏变薄,可见裂痕,多处断裂塌陷,骨小梁表面成骨细胞较少,空骨陷窝多,骨细胞肿胀或萎缩,骨基质胶原纤维散乱疏松解,髓腔间隙增宽。C 组与 D 组相比,骨小梁结构致密稍差,骨小梁表面可见新生成骨细胞,未见明显裂痕,髓内脂肪细胞未见明显堆积。D 组骨小梁规整致密,骨小梁表面见新生成骨细胞,骨表面光滑,髓腔规则。



注:箭头所指为空骨陷窝

图 2 4 组股骨头电镜结果(×500)

5 4 组股骨头空骨陷窝率比较(表 2) 第 2、5、8 周末,B 组空骨陷窝率明显高于 A 组( $P < 0.01$ ), C、D 组空骨陷窝率明显低于 B 组( $P < 0.01$ ),且 C 组空骨陷窝率上升的幅度高于 D 组,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 2 4 组第 2、5、8 周末空骨陷窝率统计结果 (% ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	2w	5w	8w
A	8.63 ± 1.41	11.13 ± 1.13	10.50 ± 2.00
B	17.75 ± 3.28*	20.38 ± 1.30*	21.83 ± 3.97*
C	12.63 ± 1.60 <sup>△</sup>	13.38 ± 1.41 <sup>△</sup>	16.13 ± 2.03 <sup>△</sup>
D	11.25 ± 1.83 <sup>△</sup>	13.50 ± 1.60 <sup>△</sup>	13.13 ± 1.81 <sup>△</sup>

注:与 A 组比较,\* $P < 0.01$ ;与 B 组比较,<sup>△</sup> $P < 0.01$ ;每组 2、5、8 周 n 均为 8

讨 论

SANFH 属于骨科常见且疑难病之一,其发病机

制目前尚不十分明确,近年来关于其发病机制的研究日益增多,可以肯定的是由于激素通过某种途径影响了股骨头的血供而致骨坏死。学者们提出多种致病学说:脂肪栓塞、静脉瘀滞、血管损伤、骨质疏松、骨内高压、遗传性异常血红蛋白症、激素对骨细胞的细胞毒作用等<sup>[6,7]</sup>。这些学说虽然从各个角度解释了股骨头坏死的病理机制,但都不能完全解释股骨头坏死的病理演变,同时对预防和治疗股骨头坏死方面的研究存在着不足。股骨头缺血性坏死属中医学“骨蚀”范畴。中医认为此病的病机主要是肾虚血瘀,肾主骨生髓,肾虚无以濡养筋骨,血瘀致络脉瘀滞,气血不通,骨失所养。本实验所采用的活血通络汤,全方具有化瘀通络,益气补肾之功。本实验通过对 Notch2/DLL1/Hes1 信号途径的研究来阐述其相关作用机制。

“Notch 信号通路”是进化上高度保守的信号通路,是一种连接并调节细胞之间的通讯方式,参与细胞的增殖、分化、凋亡等重要过程,被认为在多细胞生物细胞分化中起核心作用<sup>[8]</sup>,同时也是血管生成的重要调控因素<sup>[9]</sup>。它在不同的疾病中有着不同的作用<sup>[10-13]</sup>。其广泛分布于哺乳动物体内,主要是由 Notch 受体蛋白(Notch1-4),Notch 配体蛋白(DLL1、3、4 与 Jagged1、2),CSL 转录因子(DNA 结合蛋白),以及下游靶基因(Hes1、5 和 HERP 等)组成<sup>[14]</sup>。当 Notch 受体与配体相结合后,活化的 Notch 受体从胞膜上脱落,无须第二信使可直接转至核内,引起受体连续水解后释放其胞内域(NICD)而活化,NICD 与 CSL 结合后激活下游的 Hes1 等基因表达<sup>[15]</sup>;Notch 信号通路这种直接从胞膜到胞核的传递信号的方式,虽然效率较低,但特异性强,基本上可以避免其他信号的干扰。

Notch 受体是动物发育过程中一类重要的信号调控蛋白家族,有研究表明,条件性的剔除 Notch1 基因,小鼠胚胎虽然有正常的血管发生,但是不能进行血管的形成,在胚胎中不能形成正常的血管,引起胚胎的死亡<sup>[16]</sup>。既往有关 Notch2 受体在骨形成方面的描写较少,Notch2 受体同样也是该蛋白家族的重要成员,影响新生血管形成和凋亡、分化。本实验研究结果显示,B、C、D 组的 Notch2 基因表达值随着造模时间的增加,从第 2 周到第 8 周呈递增趋势,表明了激素通过影响股骨头血供而促进 Notch2 表达的增加。C、D 组通过喂服活血通络汤中药饲料,尽管有呈增长趋势,但明显低于 B 组,C 组 Notch2 基因表达值在第 8 周甚至低于第 5 周,表明了活血通络汤在一定程度上抑制了 Notch2 的表达,减轻激素对股骨头血供的影响。

DLL1 为单次跨膜糖蛋白,属于 DSL 蛋白家族,它

与 Notch 受体相结合而激活 Notch 信号通路,决定细胞分化的命运,参与调控许多组织的生长发育<sup>[17]</sup>。第 2 周末时,B、C、D 组的 DLL1 基因表达值均高于 A 组,表明实验造模成功。从第 2 到第 8 周,A 组增长趋势大于 B 组;C 组第 5 周的 DLL1 基因表达值有所上升,但第 8 周时 DLL1 基因表达值低于第 2、5 周,略呈下降趋势;C、D 组 DLL1 基因表达值低于 B 组,表明了活血通络汤或许也能一定程度上抑制 DLL1 的表达。

Hes1 是 Notch 信号通路下游重要的逆转录因子,在 Notch 信号通路中发挥着重要的作用<sup>[18]</sup>。有研究发现,Hes1 基因可以调节细胞的增殖与分化<sup>[19]</sup>。因此可以推测,Hes1 基因的存在与表达对血管的生成与修复有一定的影响。本实验研究结果显示,B、C、D 组 Hes1 基因表达值从第 2 到 8 周总体呈现递增趋势,表明激素促使 Hes1 表达。B 组 Hes1 基因表达增长趋势明显大于 C、D 组,表明活血通络汤在一定程度上抑制 Hes1 的表达。减轻了激素对于股骨头血供的影响,D 组效果更优。

通过光镜的图片可知,C、D 组骨小梁相较于 B 组较粗大,排列规则,骨髓腔内造血细胞较多,脂肪细胞未见大量增生,骨细胞大部分正常,空骨陷窝较少,软骨下可见丰富血管。B 组的骨小梁明显变细,组织结构紊乱,骨髓中脂肪细胞明显增多造血细胞明显减少,部分动物骨髓腔内造血细胞完全消失,骨细胞骨缩、边集,空骨陷窝广泛存在。通过电镜的图片可知,C、D 组骨小梁稍薄,骨小梁表面见新生成骨细胞。B 组骨小梁相较 C、D 组稀疏变薄,可见裂痕,骨小梁表面成骨细胞较少,空骨陷窝多,骨细胞肿胀或萎缩,骨基质胶原纤维散乱松解,髓腔间隙增宽。说明活血通络汤能够促进骨坏死的修复和骨血运的重建。

股骨头坏死的病理过程非常复杂,通过本实验对 Notch2/DLL1/Hes1 信号途径的研究,以及股骨头坏死的病理镜检报告所示,活血通络汤具有抑制 Notch2/DLL1/Hes1 信号途径的表达,减轻激素对于股骨头血供的影响,改善股骨头的血供,促进股骨头坏死的修复,一定程度预防并减缓的股骨头坏死的进程。由此可见,Notch2/DLL1/Hes1 信号途径在早中期股骨头坏死过程中占有很重要的角色。

利益冲突:无。

参 考 文 献

[1] 张弛,杨志伟,段小英.活血通络法治疗激素性股骨头坏死兔胰岛素样生长因子 1 的变化[J].中国组织工程研究,2012,16(52):9787-9791.  
 [2] 肖鹏,江蓉星,贾敏.活血通络汤治疗激素性股骨头缺

血性坏死的空骨陷窝率及病理形态学观察[J].四川中医,2015,33(4):51-53.  
 [3] 肖鹏,江蓉星,贾敏,等.活血通络汤治疗激素性股骨头缺血性坏死 V-O-A 反应轴及其基因表达的调控机制研究[J].四川中医,2014,32(9):49-52.  
 [4] 钱智斌,江蓉星,王培荣.活血通络汤对 SANFH 家兔血浆 ET、BGP 影响的实验研究[J].西南国防医药,2013,23(11):1161-1164.  
 [5] 贺西京,毛履真,王坤正,等.肾上腺皮质激素引起股骨头缺血性坏死的机制实验研究[J].中华骨科杂志,1992,12(6):440.  
 [6] 邹俊,江蓉星,丁志清,等.活血通络汤对激素性股骨头坏死模型 VEGF、TNF- $\alpha$  影响的研究[J].时珍国医国药,2016,27(3):555-557.  
 [7] 朱述英.激素性股骨头坏死的发病机制研究现状[J].中国卫生产业,2016,13(31):186-188.  
 [8] Katsuto H, Naoko N, humi T, et al. Notch signaling is necessary for GATA3 function in the initiation of T cell development [J]. Eur J Immunol, 2008, 38(4): 977-985.  
 [9] Fischer A, Schumacher N, Maier M, et al. The Notch target genes Hey1 and Hey2 are required for embryonic vascular development [J]. Genes Develop, 2004, 18(8): 901-911.  
 [10] 秦迪,黄丽红. Notch 信号转导通路在缺血性心脏病中的作用[J].中国老年学,2011,31(19):3850-3852.  
 [11] 苏麒麟,孙鑫,杨芳,等.补肾中药对绝经后骨质疏松症模型大鼠骨及肌肉组织 Notch 信号通路蛋白表达的影响[J].中华中医药杂志,2016,31(8):3208-3212.  
 [12] 黄仁发,赖虹伊,梁群卿,等. Notch2/Hes-1 信号通路活化参与调控肾缺血-再灌注诱导炎症因子的表达研究[J].中国现代医学杂志,2015,25(17):5-11.  
 [13] 窦昊颖,张盼盼,梁芳芳,等. Notch2、Notch3、Jagged2 和 Hes3 在当归补血汤协同肌源性干细胞移植鼠骨髓中的表达和作用[J].时珍国医国药,2016,27(12):3059-3061.  
 [14] Bray SJ. Notch signaling: a simple pathway becomes complex [J]. Nature Rev Molec Cell Biol, 2006, 7(9): 678-690.  
 [15] Purow BW, Haque RM, Noel MW, et al. Expression of Notch-1 and its ligands, Delta-like-1 and Jagged-1, is critical for glioma cell survival and proliferation [J]. Cancer Res, 2005, 65(6): 2353-2563.  
 [16] Limbourg FP, Takeshita K, Radtke F, et al. Essential role of endothelial Notch1 in angiogenesis [J]. Circulation, 2005, 111(14): 1826-1832.  
 [17] 郭政,崔丽娟,黄瑾. DLL1-ICD 基因真核表达载体的构建及转染鉴定 [J]. 石河子大学学报(自科版), 2011, 29(1): 54-58.  
 [18] Yu L, Liang H, Lu Z, et al. Membrane receptor-dependent Notch1/Hes1 activation by melatonin protects against myocardial ischemia-reperfusion injury: *in vivo* and *in vitro* studies [J]. Pineal Res, 2015, 59(4): 420-433.  
 [19] Liu ZH, Dai XM, Du B. Hes1: a key role in stemness, metastasis and multidrug resistance [J]. Can Biol Ther, 2015, 16(3): 353-359.

(收稿:2017-05-13 在线:2018-07-23)

责任编辑:段碧芳  
 英文责编:张晶晶