

· 综 述 ·

淫羊藿治疗糖皮质激素相关型股骨头坏死研究进展

陈 浩 杜 斌 刘 铨 侯 伟 高飞飞

糖皮质激素相关型股骨头坏死 (glucocorticoid-associated osteonecrosis of the femoral head, GA-ONFH) 属于非创伤性股骨头缺血性坏死, 是指长期或大剂量应用糖皮质激素, 导致股骨头活性成分死亡, 进而引起股骨头负重区骨小梁结构改变、股骨头不可逆塌陷, 最终导致髋关节功能障碍的一类疾病^[1]。该病以中青年多见, 预后差, 致残率高^[2,3], 且由于该病患者大多有基础疾病, 需终身服用糖皮质激素, 病变常呈进行式发展, 一旦进展到围塌陷期则仅有人工关节置换这一种根治性手术^[1]。GA-ONFH 的确切发病机制尚无定论^[4], 现代医学对此病尚无疗效确切的药物, 而中医学在 GA-ONFH 的治疗上具有一定优势^[5]。

GA-ONFH 属中医学“骨痹”“骨痿”“骨蚀”的范畴, 中药淫羊藿在《本草备要》^[6]中记载其功效:“补命门, 益精气, 坚筋骨”, 常用于治疗早、中期 GA-ONFH, 并能取得良好的临床疗效^[7]。近年来, 淫羊藿治疗 GA-ONFH 成为最新的研究热点, 现从中医学和现代医学的角度, 对淫羊藿的研究和应用进展予以综述, 以期对 GA-ONFH 的治疗提供参考。

1 中医学对 GA-ONFH 的认识

1.1 中医学理论 《黄帝内经》中记载:“风寒湿三气杂至, 合而为痹”“病在骨, 骨重不可举, 骨髓酸痛, 寒气至名曰骨痹”^[8]。《灵枢·刺节真邪》认为:“虚邪之入于身也深, 寒与热相搏, 久留而内着, 寒胜其热, 则骨疼肉枯; 热胜其寒, 则烂肉腐肌为脓, 内伤骨, 内伤骨为骨蚀”^[9]。《素问·痿论篇》记载:“肾气热, 则腰脊不举, 骨枯而髓减, 发为骨痿”^[10]。

1.2 中医药治疗股骨头坏死经验撷英 GA-ONFH 的病位在股骨头, 病机责之于“痰”“瘀”“虚”, 病理性质以脾肾亏虚为本, 血瘀痰凝为标, 在治疗上以健脾补肾为主, 兼以活血化瘀祛痰为辅。

谢利民教授基于“瘀”“痰”“虚”理论, 创制健脾补肾方, 以茯苓、白术实后天之本, 令气旺血行, 瘀去络通; 补骨脂、川牛膝、骨碎补温补脾肾, 强筋壮骨; 红花、延胡索活血化瘀通络止痛, 甘草补益脾气, 缓急止痛, 并调和诸药, 对于早、中期股骨头坏死患者, 能明显改善髋关节功能, 提高生活质量^[13]。郭成龙等^[14]使用生骨再造丸治疗 GA-ONFH, 方由黄芪、炙淫羊藿、烫骨碎补、龙血竭、三七等诸味中药组成, 共奏补益肝肾、益气活血、通阳利湿之功, 可有效缓解患者临床症状, 改善髋关节功能。

章春生等^[15]对相关文献进行数据挖掘后发现 GA-ONFH 的中药治疗中, 淫羊藿的使用频数占用药总数、占方比等均较高。淫羊藿又名仙灵脾、刚前, 具有补肝肾、强筋骨、祛风湿之功效, 常用于治疗筋骨挛急、腰膝无力、风湿痹痛等骨伤科疾患。周金良等^[16]应用“淫羊藿方”治疗 60 例早、中期 GA-ONFH, 短期随访取得优良的疗效。临床常用于治疗 GA-ONFH 的中药“仙灵骨葆”及诸方受教授治疗 GA-ONFH 的验方“补肾活血汤”, 君药均为淫羊藿^[17], 其中一项针对仙灵骨葆的多中心、随机、双盲、安慰剂对照的临床试验结果显示, 仙灵骨葆可有效降低接受糖皮质激素治疗的免疫炎症性疾病患者股骨头坏死的风险^[18]。

2 现代医学对 GA-ONFH 的研究

2.1 GA-ONFH 的病因及发病机制 长期或大剂量使用激素类药物, 可造成脂质代谢紊乱及激素性骨质疏松, 继而引起股骨头微循环障碍, 骨细胞、骨髓造血细胞死亡, 最终导致股骨头缺血性坏死^[19]。GA-ONFH 的确切发病机制尚无定论, 但目前认为是多种因素共同作用的结果, 骨循环障碍被认为是导致其发生和发展的重要因素^[20], 国内外学者比较认可的学说主要有: (1) 脂代谢紊乱学说; (2) 骨髓间充

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (No. 82074471); 国家自然科学基金青年基金资助项目 (No. 81804117); 江苏省卫生健康委科研项目 (No. K2019027)

作者单位: 南京中医药大学附属医院江苏省中医院骨科 (南京 210000)

通讯作者: 杜 斌, Tel: 025-86617141, E-mail: robindu10@sina.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20210730. 087

质干细胞 (bone marrow stromal cells, BMSCs) 的成骨潜能降低学说; (3) 血管内凝血与血管损伤学说; (4) 炎症与细胞凋亡学说; (5) 基因多态性与非编码 RNA 学说^[19]。

2.2 淫羊藿治疗 GA-ONFH 的药理学研究进展 淫羊藿为小檗科植物淫羊藿 *Epimedium brevicornu Maxim.*、箭叶淫羊藿 *Epimedium sagittatum (Sieb. et Zucc.) Maxim.*、柔毛淫羊藿 *Epimedium pubescens Maxim.* 或朝鲜淫羊藿 *Epimedium koreanum Nakai* 的干燥叶, 通过网络药理学和生物信息学分析, 淫羊藿能干预磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKT)、缺氧诱导因子 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)、Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 等通路, 通过抑制炎症反应、调控细胞增殖、下调细胞凋亡、抗缺氧、免疫调节等机制, 发挥促进成骨修复, 抑制骨吸收, 改善股骨头局部血运等作用^[21,22]。

超高效液相色谱-飞行时间质谱联用 (ultra performance liquid chromatography-quadrupole-time of flight mass spectrometric/mass spectrometric, UPLC-QTOF-MS/MS) 具有分析周期短、灵敏度高等特点, 是目前研究中药复杂体系中化学成分和定性分析的重要工具^[23]。马文娟等^[24]、王媛等^[25]采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对淫羊藿中的化学成分进行分析, 发现淫羊藿中的主要活性成分为黄酮类和糖类, 其中黄酮类包括淫羊藿总黄酮、淫羊藿苷 (Icariin, ICA)、淫羊藿素及淫羊藿次苷 (Icariside, ICS), 这些活性成分延缓或逆转了 GA-ONFH 的病理过程, 从而发挥治疗作用^[26-28]。

2.2.1 淫羊藿总黄酮 (total flavones of epimedium, TFE) TFE 是从中药淫羊藿中提取出的黄酮单体类成分的总称, 包括 ICA、朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、宝藿苷 I 等^[29]。

BMSCs 是一种具有多向分化潜能的多能干细胞, 可作为种子细胞定向诱导分化为成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞等。李东晓等^[30]、马慧萍等^[31]发现 TFE 在一定剂量和适宜的条件下可诱导 BMSCs 的成骨分化, 显著刺激细胞增殖, 还能显著提高碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 活性、骨钙素 (osteocalcin, OCN) 含量和钙盐沉积量。

成骨转录因子 (runt-related transcription factor 2, Runx2) 和成骨相关转录因子抗体 (osterix, OSX) 是骨形成过程中的重要转录因子, TFE 可能通过激

活信号通路上的关键靶点基因来提高这 2 个因子的表达, 从而促进成骨细胞分化及骨形成^[32,33]。TFE 能增加骨形态发生蛋白 2 (bone morphogenetic protein 2, BMP2) 的 mRNA 表达, 促进人成骨细胞增殖和分化^[34]。Zhang JF 等^[35]除观察到 BMP2、BMP4 和 Runx2 的表达水平提高外, 还发现 β -catenin 的表达量增加, 当用 Wnt/ β -catenin 的阻断剂 DKK-1 处理 BMSCs 后, 发现成骨分化受到抑制, 表明 TFE 通过激活 Wnt/ β -catenin 信号途径促进骨形成。梁广胜等^[36]验证了 TFE 具有促进成骨细胞分化和修复骨组织的作用, 还证实 TFE 能通过调节 BMP2/Runx2/OSX 信号通路加快 BMSCs 分化成成骨细胞的进程。

Huang J 等^[37]发现, TFE 在体外不仅能促进成骨细胞的分化, 还能抑制破骨细胞的分化, TFE 能引起肌动蛋白环的回缩, 减少细胞内超氧阴离子自由基, 进而导致吸收陷窝的面积缩小, 从而抑制破骨细胞的骨吸收。陈虹等^[38]通过相关实验证实, TFE 可抑制肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 表达, 阻止骨髓基质中破骨细胞的生成, 进而减少骨质丢失。刘亦恒等^[39]发现, TFE 能通过增强成骨细胞骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) mRNA 的表达, 对破骨细胞的成熟和分化进行抑制, 从而间接促进成骨细胞的生成。

张华峰等^[40]通过大鼠模型证实, 长期使用糖皮质激素引起的氧化应激会严重降低骨组织的修复能力, GA-ONFH 中存在成骨细胞氧化损伤和凋亡。罗则华等^[41]发现, TFE 具有优越的抗氧化性能, 该类化合物可以与自由基发生氧化还原反应, 从而调节细胞处于还原状态, 抵抗机体损伤^[42], 对于修复 GA-ONFH 中氧化损伤的成骨细胞具有较好的研究前景。

2.2.2 ICA ICA 是淫羊藿的主要活性成分之一, 也被视为淫羊藿成分质量控制的化学标记^[43], 历版《中国药典》均要求其含量不得低于 0.5%, 总黄酮不得低于 5%^[44]。

鲍远等^[45]将体外是否存在成骨诱导培养作为变量, 用 ICA 作用于 BMSCs, 发现无论是否存在成骨诱导培养条件, ICA 均能促进成骨分化相关基因 (Runx2、OCN 和 OSX) 的表达, 增加成骨细胞分泌的钙结节数量, 并且在成骨诱导培养时, ICA 能明显增加钙结节沉积。Huang Z 等^[46]证实 ICA 能促进 BMSCs 的成骨分化过程, 还发现 ICA 能抑制糖皮质激素增强 BMSCs 的成脂分化过程,

使得 BMSCs 的 TG 含量降低, 脂滴形减少, 下调与成脂分化相关的增殖子活性受体 γ (proliferator active receptor, PPAR γ) 的表达水平。罗远等^[47]对骨质疏松模型小鼠灌服一定时间的 ICA 后, 进行骨切片染色、分析成骨和成脂基因和蛋白的变化, 发现小鼠骨髓细胞中成骨基因的表达上调, 而成脂通路受到了抑制, 证明 ICA 具有促进骨形成、抑制成脂分化的作用。赵丹等^[48]研究还发现, 高浓度的 ICA 对成脂分化的抑制作用较大, 而低浓度的作用并不显著。

ICA 对 BMSCs 的作用与多个通路有关。谢小伟等^[49]分别采用糖皮质激素、ICA 及锍盐培养大鼠乳鼠 BMSCs, 发现 ICA 及锍盐可以在一定程度上减少超生理剂量糖皮质激素对 Wnt 信号通路的抑制作用, 进而促进 BMSCs 成骨分化、抑制其成脂分化。ICA 可激活 ER α -Wnt/ β -catenin 及 Notch 信号通路, 上调 Runx2 的表达, 发挥成骨作用; 可激活丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路, 增加 I 型胶原蛋白 (collagen - I, COL - I) 和 OCN 的基因表达, 增强体内外 BMSCs 的自我更新能力, 诱导 BMSCs 向成骨细胞分化^[50-52]。此外, ICA 可激活细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK)、p38 激酶和 c-JunN 末端激酶 (c-JunN terminal kinase, JNK), 增加成骨细胞活力^[53]。

成骨细胞与破骨细胞功能的动态平衡是维持骨量的关键, 糖皮质激素能诱导成骨细胞凋亡, 增加破骨细胞的数量和活性, 导致成骨活性降低, 骨吸收增强, 发生 ONFH。马小妮等^[54]、蒯慧荣等^[55]在大鼠颅骨成骨细胞中加入 ICA/ICA 纳米微粒, 检测成骨相关基因和蛋白水平发现 ICA 可能通过促进 OSX、Runx2、ALP 和 COL- I 基因表达, 提高 COL- I 蛋白表达量及细胞内钙离子浓度来促进骨形成; 并通过促进 OPG 及 OPG、RANKL 基因和蛋白水平的表达量来抑制破骨细胞骨吸收, 并且 ICA 纳米微粒的上述作用均强于 ICA 原料药。ICA 可通过抑制 MAPK 和核转录因子 (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 的活性, 下调 HIF-1 α 、前列腺素 E₂ 及 MMP-9 的基因表达, 抑制造血细胞分化为破骨细胞^[56, 57]。此外, ICA 可减少超氧阴离子的生成及肌动蛋白环的大小和数量, 降低细胞内钙浓度, 抑制破骨细胞活性, 从而抑制骨吸收^[37]。

骨微血管内皮细胞 (bone microvascular endothelial cells, BMECs) 是附着在骨小梁上的单层结构, 对

维持骨内正常微环境具有重要意义, 糖皮质激素对 BMECs 的损伤是引起股骨头坏死和继发性骨质疏松症的重要原因。研究表明, ICA 既能增强血管作用, 也可抑制内皮细胞功能障碍^[58]。张庆宇等^[59]从行全髋关节置换术切取的股骨头中分离 hBMECs, 用氢化可的松及 ICA 干预, 并检测自噬相关蛋白、微管相关蛋白及轻链 3B 的表达, 发现 ICA 及 BMECs 产生的外泌体能改善低浓度激素诱导的 BMECs 自噬, 对内皮细胞起到保护作用。赵丁岩等^[60, 61]、Yue J 等^[62]研究发现 ICA 可提高促血管生成因子的表达, 抑制炎症因子 IL-4 表达, 同时可有效预防激素诱导 BMECs 引起的 miR-23b、miR-335 表达失衡来预防 GA-ONFH 的发生。

2.2.3 淫羊藿素 (Icaritin, ICT) ICT 是由 ICA 经纤维素酶水解, 脱去两个糖基的苷元形式。在 ICA 的各种去糖基化代谢产物中, ICT 的成骨活性最高^[63], 是干预骨坏死常用有效中药单体成分^[35, 64, 65]。

魏振龙等^[63]及 Lim R 等^[66]研究表明, ICT 能通过促进 Stat3 磷酸化, 显著提高小鼠成骨细胞 CXCR4 的基因和蛋白表达量, 并可能通过 CXCR4/SDF-1 信号通路提高小鼠成骨细胞成熟和矿化。对去卵巢大鼠早期给予 ICT 治疗, 能显著增加成骨细胞的分化和增殖, 促进基质钙化^[64]。在破骨祖细胞培养中, ICT 能抑制破骨细胞分化, 降低骨吸收活性, 与 ICS II 协同作用还可抑制前破骨细胞系 Raw264.7 细胞的生长^[67]。

熊吻等^[68]对大鼠 BMSCs 进行体外培养发现, ICT 能促进大鼠 BMSCs 的增殖, 且增殖效果与 ICT 的浓度呈正相关性。Wu T 等^[69]用 ICT 处理 hBMSCs 和人脂肪组织来源干细胞 (Human Adipose-Derived Stem Cells, hADSCs) 后发现, ICT 可能通过直接刺激 BMP, 增强 hBMSCs 和 hADSCs 体外成骨分化。翟远坤等^[70]研究也证实 ICT 可提高 BMSCs 的分化增殖, 明显增高 ALP 的活性, 促进骨钙素的分泌和钙盐的沉积, 增加钙化结节数量, 提高 IGF-1、OSX 和 Runx2 的 mRNA 的水平。研究还发现, ICT 可通过抑制 PPAR γ 表达, 减少由其上调造成的 BMSCs 血管外脂质沉积, 改善微循环, 有助于延缓或治疗 ONFH^[71]。

2.2.4 ICS ICS 包括淫 ICS I、ICS II, 其中 ICS II 是淫羊藿在体内代谢最主要的产物。

瞿慧等^[72]通过体外诱导成骨细胞系统, 发现 ICS I 和 ICS II 均能诱导 BMSCs 定向成骨转化, 且能提高 ALP 活性, 促进 BGP、COL- I、BMP2 的

蛋白表达量,其作用机制可能与激活 BMP/Runx2/OSX 信号通路有关。Luo G 等^[73, 74]使用 ICS II 处理 BMSCs 后观察到钙结节的形成,发现 MAPK/ERK 的磷酸化水平、成骨相关蛋白和基因 (Runx2、OCN) 等均有所提高,表明 ICS II 可能通过 MAPK/ERK 及 PI3K/AKT/mTOR/S6K1 信号通路促进 BMSCs 的成骨分化。翟远坤等^[75]发现,ICS II 还能通过激活雌激素信号通路促进 BMSCs 的成骨性分化。贺龙刚等^[76]研究结果证明,ICS I 和 ICS II 在体外均能通过 AP-1/NFATc1 信号通路抑制破骨细胞生成。

此外,研究表明地塞米松能直接损伤成骨细胞^[77],Liu W 等^[78]发现在 MC3T3-E1 成骨细胞和原代小鼠成骨细胞中,ICS II 能激活 EGFR-Akt-Nrf2 信号,显著降低地塞米松诱导的细胞死亡和凋亡,在 GA-ONFH 的治疗中具有重要价值。

2.2.6 淫羊藿多糖 (epimedium polysaccharide, EPS) EPS 是淫羊藿主要成分之一,但目前对于淫羊藿治疗 GA-ONFH 的研究主要集中在黄酮类成分,对 EPS 的研究相对较少。

王力^[79]在大鼠骨髓中分别加入 EPS、二甲基亚砜进行体外培养,通过倒置显微镜下观察及 MTT 比色法检测,发现 EPS 对大鼠 BMSCs 的生长表现出先抑制后促进作用,且作用效果呈剂量依赖性。Zheng H 等^[42]对成骨细胞使用 EPS 进行预处理,发现 EPS 能显著防止地塞米松诱导的成骨细胞增殖减少,增强 ALP 活性,促进钙含量的增加。同时,Lrp-5、 β -连环蛋白、Runx2 和 OSX 的蛋白表达在 EPS 预处理中均显著上调。这些结果表明,EPS 预处理可能是治疗糖皮质激素导致的骨质疏松症的潜在方法。李秋莹等^[80]对于不同品种 EPS 的进行体外抗氧化能力实验,发现不同品种的 EPS 均具有较好的抗氧化活性。Cheng H 等^[81]证实了 EPS 显著的抗氧化活性,还发现其抗氧化能力呈剂量依赖性。前文提到在 GA-ONFH 的成骨细胞中存在广泛的氧化损伤,发挥 EPS 的抗氧化作用可能成为治疗 GA-ONFH 的新思路。

2.3 淫羊藿的应用研究 李磊^[82]将兔分为空白对照组、造模组、髓芯减压治疗组、髓芯减压联合 BMSCs 移植治疗组、髓芯减压联合 ICA 诱导形成 BMSCs 治疗组,在术后第 2、4、8 周,根据 Micro-CT 三维重建及骨微观结构参数计算、HE 染色、免疫荧光等技术检测 GA-ONFH 区的修复情况,初步证实经诱导的 BMSCs 联合髓芯减压能明显促进 GA-

ONFH 的修复。刘志国等^[83]则将兔 GA-ONFH 模型分为空白对照组、模型组、手术 (髓芯减压术) 组、中药 (口服淫羊藿) 组、综合 (髓芯减压术联合淫羊藿) 组,检测 5 组股骨头的骨密度、生物力学、相关基因及蛋白表达,结果显示淫羊藿与髓芯减压术相结合可有效增加股骨头骨密度,提高骨强度。王振强^[84]选择犬作为股骨头坏死模型进行研究,发现口服淫羊藿联合多孔钽棒植入与单纯淫羊藿或手术治疗比较,中药联合手术能有效缩短动物模型术后恢复时间,影像学评价及组织学结果最好。

除髓芯减压、口服淫羊藿外,将淫羊藿活性成分负载于组织工程支架,在提供坚实有效支撑的同时,直达病所,促进支架周围骨修复,是提高保髋临床疗效的可行方案。王德欣等^[85]利用兔 BMSCs 分别对 ICA/HA/PLGA 支架复合支架的细胞黏附、增殖、成骨作用和细胞毒性进行评价,发现该复合支架支架具有良好的机械性能、成骨作用和生物相容性。彭晨健等^[86]将 3D 打印 β -磷酸三钙复合支架植入兔股骨头坏死模型中,于第 4、8、12 周,根据 Micro-CT 结果及组织学观察新生骨小梁生长情况、成骨细胞增殖分化、新生骨组织与植入物整合情况,发现复合支架组与自体骨植入组疗效相似,均优于单纯植入组,结果表明 3D 打印 β -磷酸三钙复合支架能够显著促进坏死区骨组织的修复与再生。此外,Qin L 等^[87]对 GA-ONFH 鹌鹑模型植入聚乳酸-羟基乙酸/磷酸钙-ICT 支架,发现 ICT 修饰支架能增强髓芯减压术后的骨修复活性,预防股骨头塌陷。刘铎等^[88]制备出负载淫羊藿素的多孔 β -磷酸三钙-聚吡咯-生物素复合支架,发现这种新式支架在实现药物的控释同时,能有效募集 BMSCs 附着支架表面,为骨修复创造基础环境,具有较好的开发应用前景。

3 总结与展望

目前对于 GA-ONFH 的治疗,早、中期以保髋为主,晚期仅能进行人工关节置换。中医学中,GA-ONFH 属于“骨痹”“骨痿”范畴,应用以淫羊藿为君的中药汤剂、中成药均有较好的治疗效果。同时,淫羊藿因其来源广泛,价格低廉、不良反应小等特点,成为现代医学研究的热点。淫羊藿活性分子具有诱导 BMSCs 成骨分化、抑制成脂分化,促进成骨细胞增殖及分化成熟,抑制破骨细胞活性和骨吸收,保护 BMECs 免受损害,改善微循环,抗氧化损伤的作用,将淫羊藿活性分子负载于组织工程支架,能有效促进 GA-ONFH 动物模型的骨修复。

然而,现代医学对淫羊藿及其活性成分的应用还

处于动物实验阶段, 缺乏临床研究数据。相信随着组织工程技术的发展、临床医学水平的提高, 淫羊藿将给 GA-ONFH 患者带来福音。

参 考 文 献

- [1] Drescher W, Schlieper G, Floege J, et al. Steroid-related osteonecrosis—an update[J]. Nephrol Dial Transplant, 2011, 26 (9): 2728–2731.
- [2] Mont MA, Cherian JJ, Sierra RJ, et al. Nontraumatic osteonecrosis of the femoral head: where do we stand today? A ten-year update[J]. J Bone Joint Surg Am, 2015, 97 (19): 1604–1627.
- [3] Liu F, Wang W, Yang L, et al. An epidemiological study of etiology and clinical characteristics in patients with nontraumatic osteonecrosis of the femoral head[J]. J Res Med Sci, 2017, 22: 15.
- [4] Weinstein RS, Hogan EA, Borrelli MJ, et al. The pathophysiological sequence of glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head in male mice[J]. Endocrinology, 2017, 158 (11): 3817–3831.
- [5] 中国医师协会骨科医师分会骨循环与骨坏死专业委员会, 中华医学会骨科分会骨显微修复学组, 国际骨循环学会中国区. 中国成人股骨头坏死临床诊疗指南 (2020) [J]. 中华骨科杂志, 2020, 40 (20): 1365–1376.
- [6] 汪昂, 郑金生主编. 本草备要 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 99.
- [7] 苏玉亭. 健骨补肾方治疗股骨头坏死 93 例 [J]. 陕西中医, 2011, 32 (12): 1613–1615.
- [8] 叶福生, 吴乘亮. 骨痹病症结合研究的若干进展 [J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32 (9): 1293–1296.
- [9] 周李学, 李志敏, 段璋, 等. 活血法防治早期激素性股骨头坏死的研究进展 [J]. 创伤与急诊电子杂志, 2015, 3 (2): 1–5.
- [10] 谭旭仪, 卢敏, 高书图. 浅析激素性股骨头坏死的“瘀、虚、痰”理论 [J]. 中医药导报, 2014, 20 (16): 7–9.
- [11] 何伟, 李博宁. 李同生名老中医治疗股骨头坏死经验浅析 [J]. 时珍国医国药, 2015, 27 (1): 207–209.
- [12] 张金良, 王宪波, 曾辉. 从中医学角度谈糖皮质激素副作用的药理机制 [J]. 北京中医药, 2010, 29 (4): 276–279.
- [13] 张振南, 谢利民, 于潼. 谢利民教授运用健脾补肾方治疗股骨头坏死 [J]. 吉林中医药, 2015, 35 (3): 229–231.
- [14] 郭成龙, 何玲, 张晓刚, 等. 生骨再造丸治疗激素性股骨头坏死 33 例 [J]. 西部中医药, 2016, 29 (12): 68–69.
- [15] 章春生, 刘铨, 杜斌, 等. 基于数据挖掘的中医药治疗糖皮质激素相关型股骨头坏死用药规律分析 [J]. 辽宁中医杂志, 2020, 47 (8): 29–34.
- [16] 周金良, 毛晓明, 李慧英. 淫羊藿方治疗早中期激素性股骨头坏死的临床观察 [J]. 生物技术世界, 2015, (7): 144.
- [17] 沈计荣, 杜斌, 诸方受, 等. 诸氏经验方加死骨清除植骨治疗股骨头坏死 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2011, 21 (2): 108–110.
- [18] Li ZR, Cheng LM, Wang KZ, et al. Herbal Fufang Xian Ling Gu Bao prevents corticosteroid-induced osteonecrosis of the femoral head—A first multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial[J]. J Orthop Translat, 2018, 12: 36–44.
- [19] Wang A, Ren M, Wang J. The pathogenesis of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head: a systematic review of the literature[J]. Gene, 2018, 671: 103–109.
- [20] Nakashima Y, Yamamoto T, Fukushi JI, et al. Transtrochanteric rotational osteotomy for avascular necrosis of the femoral head after unstable slipped capital femoral epiphysis: 10-year clinical results[J]. J Orthop Sci, 2016, 21 (6): 831–835.
- [21] 章晓云, 张驰, 宋世雷, 等. 基于网络药理学和蛋白模块探讨淫羊藿治疗股骨头坏死的机制研究 [J]. 中药材, 2019, 42 (12): 2905–2914.
- [22] 梁学振, 许波, 李刚, 等. 淫羊藿治疗股骨头坏死的分子机制分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24 (14): 188–194.
- [23] Zhu WX, Yang JZ, Wei W, et al. Simultaneous determination of 13 aminoglycoside residues in foods of animal origin by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry with two consecutive solid-phase extraction steps[J]. J Chromatogr A, 2008, 1207 (1–2): 29–37.
- [24] 马文娟, 姚广哲, 贾琪, 等. UPLC-Q-TOF-MS/MS 法定性分析淫羊藿中的化学成分 [J]. 中药材, 2019, 42 (7): 1554–1559.

- [25] 王媛, 袁磊, 李遇伯, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 的淫羊藿化学成分分析 [J]. 中草药, 2017, 48 (13): 2625-2631.
- [26] 蔡曼玲, 季晖, 李萍, 等. 五种淫羊藿黄酮类成分对体外培养成骨细胞的影响 [J]. 中国天然药物, 2004, 2 (4): 235-238.
- [27] 周政政, 罗建光, 郭宝林, 等. 不同产地主要淫羊藿品种中活性黄酮类成分分析及资源研究 [J]. 中国药科大学学报, 2009, 41 (2): 146-150.
- [28] 杜艳娇, 康琛, 杜茂波, 等. 壳聚糖絮凝法精制补肾养血颗粒水提液的工艺研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23 (4): 98-101.
- [29] 郭青, 吴晓燕, 宁青, 等. 淫羊藿茎叶中 5 种黄酮类成分分析及质量评 [J]. 中草药, 2011, 42 (10): 2028-2032.
- [30] 李东晓, 张磊, 王岚, 等. 淫羊藿总黄酮对肌内植入组织工程化骨髓间充质干细胞成骨分化的影响 [J]. 中国药理与临床, 2007, 23 (5): 88-91.
- [31] 马慧萍, 贾正平, 张汝学, 等. 淫羊藿总黄酮含药血清促进骨髓间充质干细胞增殖与成骨性分化 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2004, 10 (4): 420-422.
- [32] Soltanoff CS, Yang S, Chen W, et al. Signaling networks that control the lineage commitment and differentiation of bone cells [J]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2009, 19 (1): 1-46.
- [33] Saito T, Ogawa M, Hata Y, et al. Acceleration effect of human recombinant bone morphogenetic protein-2 on differentiation of human pulp cells into odontoblasts [J]. J Endod, 2004, 30 (4): 205-208.
- [34] Yin XX, Chen ZQ, Dang GT, et al. Effects of *Epimedium pubescens icariine* on proliferation and differentiation of human osteoblasts [J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 2005, 30 (4): 289-291.
- [35] Zhang JF, Li G, Chan CY, et al. Flavonoids of *Herba Epimedii* regulate osteogenesis of human mesenchymal stem cells through BMP and Wnt/beta-catenin signaling pathway [J]. Mol Cell Endocrinol, 2010, 314 (1): 70-74.
- [36] 梁广胜, 陈伟才, 殷嫦嫦, 等. 淫羊藿总黄酮对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化过程 BMP-2/RunX2/OSX 通路的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36 (5): 614-618.
- [37] Huang J, Zhang JC, Zhang TL, et al. Icariin suppresses bone resorption activity of rabbit osteoclasts *in vitro* [J]. Chin Sci Bull, 2007, 52 (7): 890.
- [38] 陈虹, 张秀珍. 淫羊藿苷对大鼠成骨细胞分泌细胞因子的影响 [J]. 同济大学学报 (医学版), 2005, 26 (2): 5.
- [39] 刘亦恒, 臧洪敏, 张海英, 等. 淫羊藿总黄酮对成骨细胞中 OPG 和 RANKL mRNA 基因表达影响的实验研究 [J]. 中药材, 2005, 28 (12): 1076-1078.
- [40] 张华峰, 许可, 吴伯岳, 等. Nox/NADPH 氧化酶诱导的氧化应激在激素性股骨头坏死中作用机制的实验研究 [Z]. 天津: 天津医科大学总医院, 2019-03-27.
- [41] 罗则华, 杜倩, 奚鑫, 等. 基于网络药理学的淫羊藿抗疲劳作用机制研究 [J]. 中草药, 2020, 51 (11): 2997-3004.
- [42] Zheng H, He B, Wu T, et al. Extraction, purification and anti-osteoporotic activity of a polysaccharide from *Epimedium brevicornum Maxim. in vitro* [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 156: 1135-1145.
- [43] Chen M, Wu J, Luo Q, et al. The anticancer properties of herba epimedii and its main bioactive component icariin and icarisidol [J]. Nutrients, 2016, 8 (9): 563.
- [44] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 327-328.
- [45] 鲍远, 黄俊明, 靖兴志, 等. 淫羊藿苷促进骨髓间充质干细胞成骨分化 [J]. 中国组织工程研究, 2016, 20 (24): 3501-3507.
- [46] Huang Z, Cheng C, Cao B, et al. Icariin Protects against glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head in rats [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47 (2): 694-706.
- [47] 罗远, 於丽明, 孔雅华, 等. 淫羊藿苷对小鼠骨髓腔中成骨和成脂分化作用的研究 [J]. 口腔颌面外科杂志, 2018, 28 (4): 198-203.
- [48] 赵丹, 王艳艳, 梁雄杰, 等. 淫羊藿苷对 3T3-L1 前脂肪细胞增殖及分化的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26 (22): 2398-2400.
- [49] 谢小伟, 裴福兴, 康鹏德, 等. 褪黑联合淫羊藿苷对大鼠骨髓基质干细胞成骨及成脂分化影响的研究 [J]. 中国矫形外科杂志, 2015, 23 (5): 450-458.
- [50] 邓宇, 陈廖斌. 淫羊藿苷通过激活 Notch 信号通路促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化的实验研究 [J].

- 中医学报, 2017, 32 (12): 2393-2398, 2403.
- [51] Wei Q, Zhang J, Hong G, et al. Icaritin promotes osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells by activating the ER α -Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2016, 84 (10): 931-939.
- [52] 徐娅. 淫羊藿苷在促大鼠 MSCs 骨向分化过程中对 Notch 信号通路的影响 [D]. 广州: 暨南大学, 2013.
- [53] Wu Y, Xia L, Zhou Y, et al. Icaritin induces osteogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells in a MAPK-dependent manner[J]. Cell Prolif, 2015, 48 (3): 375-384.
- [54] 马小妮, 葛宝丰, 陈克明, 等. 淫羊藿苷调节成骨细胞骨形成和破骨细胞骨吸收的机制 [J]. 中国医学科学院学报, 2013, 35 (4): 432-438.
- [55] 蒯慧荣, 高玉海, 陈克明, 等. 淫羊藿苷纳米微粒对大鼠成骨细胞成熟与矿化的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26 (9): 1352-1357.
- [56] Chen KM, Ge BF, Liu XY, et al. Icaritin inhibits the osteoclast formation induced by RANKL and macrophage-colony stimulating factor in mouse bone marrow culture[J]. Pharmazie, 2007, 62 (5): 388-391.
- [57] 吕明波, 陈克明, 葛宝丰. 淫羊藿苷对小鼠破骨细胞 MMP-9、CK mRNA 表达的影响 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20 (8): 896-899.
- [58] Yu H, Yue J, Wang W, et al. Icaritin promotes angiogenesis in glucocorticoid-induced osteonecrosis of femoral heads: *In vitro* and *in vivo* studies[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23 (11): 7320-7330.
- [59] 张庆宇, 高福强, 程立明, 等. 淫羊藿苷对骨微血管内皮细胞自噬及外泌体产生的影响 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2019, 33 (5): 568-577.
- [60] 赵丁岩, 俞庆声, 郭万首, 等. 淫羊藿苷对激素诱导损伤人股骨头微血管内皮细胞蛋白质表达谱的影响 [J]. 中华医学杂志, 2016, 96 (13): 1026-1030.
- [61] 赵丁岩, 郭万首, 俞庆声, 等. 淫羊藿苷对激素诱导损伤骨微血管内皮细胞微小 RNA 表达的影响 [J]. 中国组织工程研究, 2016, 20 (15): 2140-2147.
- [62] Yue J, Yu H, Liu P, et al. Preliminary study of icaritin indicating prevention of steroid-induced osteonecrosis of femoral head by regulating abnormal expression of miRNA-335 and protecting the functions of bone microvascular endothelial cells in rats[J]. Gene, 2021, 766: 145128.
- [63] 魏振龙, 石文贵, 陈克明, 等. 淫羊藿素通过 CXCR4/SDF-1 信号通路促进小鼠成骨细胞成熟和矿化 [J]. 浙江大学学报 (医学版), 2017, 46 (6): 571-577.
- [64] Huang J, Yuan L, Wang X, et al. Icaritin and its glycosides enhance osteoblastic, but suppress osteoclastic, differentiation and activity *in vitro*[J]. Life Sci, 2007, 81 (10): 832-840.
- [65] Ma HP, Ming LG, Ge BF, et al. Icaritin is more potent than genistein in promoting osteoblast differentiation and mineralization *in vitro*[J]. J Cell Biochem, 2011, 112 (3): 916-923.
- [66] Lim R, Li L, Chew N, et al. The prenylflavonoid Icaritin enhances osteoblast proliferation and function by signal transducer and activator of transcription factor 3 (STAT-3) regulation of C-X-C chemokine receptor type 4 (CXCR4) expression[J]. Bone, 2017, 105: 122-133.
- [67] Liu YQ, Yang QX, Cheng MC, et al. Synergistic inhibitory effect of Icariside II with Icaritin from Herba Epimedii on pre-osteoclastic RAW264.7 cell growth[J]. Phytomedicine, 2014, 21 (12): 1633-1637.
- [68] 熊吻, 甘振宝, 范江华, 等. 淫羊藿素对大鼠骨髓间充质干细胞增殖的影响 [J]. 广西中医药, 2018, 41 (1): 54-56.
- [69] Wu T, Shu T, Kang L, et al. Icaritin, a novel plant-derived osteoinductive agent, enhances the osteogenic differentiation of human bone marrow- and human adipose tissue derived mesenchymal stem cells [J]. Int J Mol Med, 2017, 39 (4): 984-992.
- [70] 翟远坤, 李志忠, 陈克明, 等. 淫羊藿素和脱水淫羊藿素对骨髓间充质干细胞成骨性分化影响的比较研究 [J]. 中国药理学杂志, 2011, 46 (11): 837-842.
- [71] Zhang G, Qin L, Sheng H, et al. A novel semisynthesized small molecule icaritin reduces incidence of steroid-associated osteonecrosis with inhibition of both thrombosis and lipid-deposition in a dose-dependent manner[J]. Bone, 2009, 44 (2): 345-356.
- [72] 晁慧, 范颖, 蒋宁, 等. 淫羊藿次苷 I 及淫羊藿次苷 II 通过 BMP/Runx2/Osx 信号通路促进大鼠骨髓间充质

- 干细胞成骨分化的实验研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2019, 25 (5): 690-695.
- [73] Luo G, Xu B, Wang W, et al. Study of the osteogenesis effect of icariside II and icaritin on canine bone marrow mesenchymal stem cells[J]. J Bone Miner Metab, 2018, 36 (6): 668-678.
- [74] Luo G, Xu B, Huang Y. Icariside II promotes the osteogenic differentiation of canine bone marrow mesenchymal stem cells via the PI3K/AKT/mTOR/S6K1 signaling pathways[J]. Am J Transl Res, 2017, 9 (5): 2077-2087.
- [75] 翟远坤, 陈克明, 葛宝丰, 等. 淫羊藿次苷 II 通过激活雌激素信号通路促进骨髓间充质干细胞的成骨性分化[J]. 中国药理学通报, 2011, 27 (10): 1451-1457.
- [76] 贺龙刚, 高奥, 邱煌沛, 等. 淫羊藿次苷 I 及其代谢产物淫羊藿次苷 II 通过 AP-1/NFATc1 信号通路调控破骨细胞生成[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32 (3): 1299-1302.
- [77] den Uyl D, Bultink IE, Lems WF. Advances in glucocorticoid-induced osteoporosis[J]. Curr Rheumatol Rep, 2011, 13 (3): 233-240.
- [78] Liu W, Mao L, Ji F, et al. Icariside II activates EGFR-Akt-Nrf2 signaling and protects osteoblasts from dexamethasone[J]. Oncotarget, 2017, 8 (2): 2594-2603.
- [79] 王力. 淫羊藿总多糖对体外培养 SD 大鼠骨髓间充质干细胞生长影响的研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2009.
- [80] 李秋莹, 陈守哲, 李波, 等. 淫羊藿多糖抗氧化性研究[J]. 亚太传统医药, 2016, 12 (18): 24-26.
- [81] Cheng H, Feng S, Jia X, et al. Structural characterization and antioxidant activities of polysaccharides extracted from *Epimedium acuminatum*[J]. Carbohydr Polym, 2013, 92 (1): 63-68.
- [82] 李磊. 淫羊藿苷诱导骨髓间充质干细胞修复股骨头坏死的实验研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2016.
- [83] 刘志国, 马文海, 李杰. 淫羊藿配合髓芯减压术治疗兔激素性股骨头坏死的实验研究[J]. 河北医药, 2014, 36 (19): 2894-2897.
- [84] 王振强. 淫羊藿联合多孔钽棒治疗股骨头坏死的实验研究[D]. 福州: 福建中医药大学, 2014.
- [85] 王德欣, 许战武, 裴国献. 骨髓间充质干细胞在淫羊藿苷/羟基磷灰石/聚乳酸-羟基乙酸共聚物支架上的成骨[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24 (25): 3974-3980.
- [86] 彭晨健, 杜斌, 孙光权, 等. 3D 打印 β -磷酸三钙支架复合淫羊藿苷微粒修复兔股骨头坏死[J]. 中国组织工程研究, 2019, 23 (14): 2162-2168.
- [87] Qin L, Yao D, Zheng L, et al. Phytomolecule icaritin incorporated PLGA/TCP scaffold for steroid-associated osteonecrosis: proof-of-concept for prevention of hip joint collapse in bipedal emus and mechanistic study in quadrupedal rabbits[J]. Biomaterials, 2015, 59: 125-143.
- [88] 刘铎, 杜斌, 孙光权, 等. 多孔 β -磷酸三钙-聚吡咯-生物素-淫羊藿素微球复合支架促进骨髓间充质干细胞的募集[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24 (34): 5532-5537.
- (收稿: 2020-12-30 在线: 2021-09-09)
责任编辑: 汤 静