

骨痹通消颗粒调控 TGF- β 1/Smads 信号通路 干预激素性股骨头坏死大鼠模型

张宗逸,吴港归,朱守旭,白浪,杨建澳,周正新,朱磊

(安徽中医药大学第一附属医院,安徽合肥 230031)

[摘要]目的 观察骨痹通消颗粒对激素性股骨头坏死(steroid-induced osteonecrosis of the femoral head,SONFH)大鼠股骨头中转化生长因子- β 1(transforming growth factor-beta 1,TGF- β 1)/Smads 信号通路的影响。**方法** 将30只雄性SD大鼠随机分成对照组($n=6$)、模型组($n=12$)、治疗组($n=12$),采用脂多糖和注射用甲泼尼龙琥珀酸钠联合注射的方式复制SONFH大鼠模型。采用苏木精—伊红染色法观察大鼠股骨头的组织形态并定量分析空骨陷窝率;酶联免疫吸附试验检测血清骨碱性磷酸酶(bone alkaline phosphatase,BALP)、I型前胶原氨基末端肽(procollagen type I N-terminal propeptide,PINP)、抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate-resistant acid phosphatase,TRACP)、 β 型I型胶原C末端肽(beta-isomerized C-terminal telopeptide of type I collagen, β -CTX)水平;Western blot法检测股骨头中TGF- β 1、Smad2、Smad3、p-Smad2、p-Smad3、Runx2蛋白表达水平;RT-qPCR法检测股骨头中TGF- β 1、Smad2、Smad3、Runx2 mRNA表达水平。**结果** 骨痹通消颗粒能显著升高SONFH大鼠股骨头中TGF- β 1、Smad2、Smad3、p-Smad2、p-Smad3、Runx2蛋白及TGF- β 1、Smad2、Smad3、Runx2 mRNA表达水平及血清BALP、PINP水平($P<0.05$),显著降低血清 β -CTX、TRACP水平和股骨头空骨陷窝率($P<0.05$)。**结论** 骨痹通消颗粒治疗SONFH的机制与激活TGF- β 1/Smads信号通路、促进骨形成并抑制骨吸收有关。

[关键词]骨痹通消颗粒;激素性股骨头坏死;TGF- β 1;Smads;信号通路;骨代谢

[中图分类号]R285.5;R681.8 **[DOI]**10.3969/j.issn.2095-7246.2025.02.020

激素性股骨头坏死(steroid-induced osteonecrosis of the femoral head,SONFH),是一种因长期或大剂量使用糖皮质激素而导致的严重骨关节疾病。激素类药物的普遍使用,使得SONFH的发病率日益增高^[1]。随着病情的发展,SONFH可逐渐造成股骨头塌陷、关节结构破坏,从而引起严重的疼痛及关节功能障碍^[2]。

目前,糖皮质激素导致股骨头坏死的具体机制尚未完全明确,但多与骨代谢失衡、脂代谢紊乱、血管内凝血和血液供应受损等因素相关^[3]。近期研究^[4-6]发现,转化生长因子- β 1(transforming growth factor-beta 1,TGF- β 1)/Smads信号通路与SONFH的发生密切相关。此信号通路对骨代谢有着广泛且直接的调控作用,不仅能直接促进成骨细胞的分化和增殖,加速骨基质的合成和沉积,还可以通过调控破骨细胞的活性、抑制骨吸收过程,对维持骨形成与骨吸收的平衡起着至关重要的作用^[7-8]。

基金项目:全国名中医专家丁镗传承工作室建设项目(czbkjf20200037);安徽省省级中医优势专科项目(zyyfw20220126);安徽省高等学校科学研究项目(2023AH040109)

作者简介:张宗逸(1999-),男,硕士研究生

通信作者:朱磊(1985-),男,硕士,副主任医师,315893816@

课题组前期研究^[9]已证实,骨痹通消颗粒在治疗早中期SONFH方面疗效显著,尤其是在促进骨代谢、降低血脂及改善微循环等方面。通过动物实验,课题组进一步研究^[10-13]发现,骨痹通消颗粒对SONFH的治疗作用与Wnt/ β -catenin、RANKL/RANK/OPG等多条信号通路密切相关。方中川芎、当归、淫羊藿、续断等中药的主要活性成分对TGF- β /Smads信号通路具有调节作用^[14]。因此,笔者推测骨痹通消颗粒对SONFH的治疗作用可能与其对TGF- β /Smads信号通路的调控作用有关。

本实验观察了骨痹通消颗粒对SONFH大鼠TGF- β 1/Smads信号通路的调控作用,同时检测了血清骨代谢指标,进一步揭示了其治疗SONFH的作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF级雄性SD大鼠30只,8周龄,体重(200 $\pm$ 20)g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司[实验动物生产许可证号:SCXK(辽)2020-0001]。

1.2 药物和试剂 骨痹通消颗粒(丹参15g,赤芍12g,川芎、当归、淫羊藿、续断各10g,肉桂4g,麝虫、甘草各6g);安徽中医药大学第一附属医院中药房配制;注射用甲泼尼龙琥珀酸钠(每支40mg,批号DH6371);辉瑞制药;脂多糖(批号21333172);Biosharp生物;注射用青霉素钠(批号H13020657);华北制药;4%多聚甲醛、乙二胺四乙

酸;国药集团;苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色试剂;Sigma-Aldrich;骨碱性磷酸酶(bone alkaline phosphatase, BALP)ELISA 试剂盒(批号 RX300464R)、I 型前胶原氨基末端肽(procollagen type I N-terminal propeptide, PINP)ELISA 试剂盒(批号 RX302968R)、抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate-resistant acid phosphatase, TRACP)ELISA 试剂盒(批号 RX300323R)、 β 型 I 型胶原 C-末端肽(beta-isomerized C-terminal telopeptide of type I collagen, β -CTX)ELISA 试剂盒(批号 RX300196R);睿信生物;抗 TGF- β 1(批号 HZ-1011)、抗 Smad2(批号 83841-4-RR)、抗 Smad3(批号 66516-1-Ig)、抗 Runx2 抗体(批号 82636-2-RR);武汉三鹰生物;SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒;山东思科捷生物。

1.3 主要仪器 Epoch 2 型全波段酶标仪;美国 BioTek 公司;HY-TS1090B 型组织脱水机、HY-BM1160 型包埋机、HY-3500 型石蜡切片机;浙江金华惠友仪器设备有限公司;实时荧光定量 PCR 试剂盒(批号 F3528);新贝生物。

2 方法

2.1 伦理审查 本实验方案已获得安徽中医药大学实验动物伦理委员会批准(编号:AHUCM-rats-2023165)。

2.2 动物分组与模型复制 按照文献[15-16]方法复制 SONFH 大鼠模型。将大鼠适应性饲养 1 周后,随机分成对照组 6 只,模型组与治疗组各 12 只。第 1 周,模型组和治疗组大鼠腹腔注射 20 μ g/kg 脂多糖,连续注射 2 次,每次间隔 24 h。末次注射脂多糖后 24 h,予以甲泼尼龙琥珀酸钠臀肌注射,每日 1 次,连续 3 d。第 2~6 周,将甲泼尼龙琥珀酸钠剂量调整为 20 mg/kg,每周 1 次,持续肌肉注射 5 周。每次注射甲泼尼龙琥珀酸钠后,给予模型组与治疗组大鼠臀肌注射 80 000 U 青霉素钠。药物干预期间,悬吊饮水以模拟大鼠双下肢负重状态。模型复制期间,对照组大鼠予以等容量生理盐水注射。6 周后,随机抽取模型组与治疗组大鼠各 2 只,取其股骨头组织,脱钙处理后光学显微镜下观察,若出现骨坏死、骨小梁不规则断裂和脂肪细胞增多,则提示 SONFH 大鼠模型复制成功。

2.3 药物干预 模型复制成功后,按照文献[17]方法计算大鼠的等效剂量(70 kg 成人剂量的 6.3 倍),治疗组大鼠给予骨痹通消颗粒 2.142 g/(kg $\cdot$ d)灌胃,对照组及模型组则予以 10

mL/(kg $\cdot$ d)生理盐水灌胃,每天 1 次,持续 6 周。

2.4 大鼠一般情况观察 观察并记录各组大鼠的行为状态、进食情况、毛发状态及整体外观。

2.5 酶联免疫吸附试验检测骨代谢标志物 腹腔注射 3%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉实验大鼠,心脏采血 5 mL,3 000 r/min 离心 20 min,取上层血清。按试剂盒说明书检测大鼠血清中骨形成标志物 BALP、PINP 和骨吸收标志物 TRACP、 β -CTX 水平。

2.6 HE 染色法观察骨的组织形态 实验结束,将所有大鼠处死,取出股骨头,置于 4%多聚甲醛中固定 48 h,使用乙二胺四乙酸进行脱钙处理,能够无阻力地将 1 mL 注射器针头插入骨组织,表示脱钙完成,样本经过全自动脱水处理后进行石蜡包埋,切片厚度 5 μ m,HE 染色后,光学显微镜下观察标本,定量分析空骨陷窝率。

2.7 Western blot 法检测 TGF- β 1/Smads 信号通路相关蛋白表达水平 每只大鼠取股骨头组织 100 mg,使用 RIPA 缓冲液从骨组织中提取总蛋白,蛋白样品经 10% SDS-PAGE 电泳分离后,通过湿转移的方法,转移到 PVDF 膜上。膜封闭后,分别用 TGF- β 1、Smad2、Smad3、p-Smad2、p-Smad3、Runx2、 β -actin 一抗在 4 $^{\circ}$ C 下过夜孵育。第 2 天用相应的 HRP 标记的二抗在室温下孵育 1 h,显色后使用 Image J(版本号 1.54,美国国立卫生研究院)软件进行条带的定量分析。

2.8 RT-qPCR 法检测 TGF- β 1/Smads 信号通路 mRNA 表达水平 采用 TRIzol 试剂,按照试剂盒说明书操作,从大鼠股骨头组织样本中提取总 RNA,使用反转录试剂盒将提取的 RNA 逆转录为 cDNA。再以 β -actin 为内参,采用 TB Green Premix Ex Taq II 扩增 TGF- β 1、Smad2、Smad3、Runx2 的 mRNA。扩增反应结束后,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目标 mRNA 的相对表达水平。引物序列见表 1。

2.9 统计学方法 采用 SPSS 26.0 软件分析数据。计量数据采用“均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)”表示。组间均数比较采用两个独立样本 t 检验和单因素方差分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 3 组大鼠一般状况比较 对照组大鼠行为活跃,进食良好,体质量稳定增长,毛发光泽。模型组大鼠行动迟缓,精神疲惫,食欲下降,毛发暗黄无光。治疗组大鼠进食量、活动量较模型组显著增加,精神状态明显好转,但仍未达到对照组水平。

3.2 3 组大鼠股骨头的组织形态比较 对照组大鼠股

表 1 各引物序列

引物	序列	扩增片段长度/bp
β-actin	上游:ATGGGTCAGAAGGATTC	169
	CTATG	
TGF-β1	下游:CCTTCATTGTGCTGGGTG	203
	上游:AGGGCTACCATGCCAACTTCTG	
Smad2	下游:TCAATGTACAGTGCCGAACA	178
	上游:ATCTGCCCTATGAGCGGAAGA	
Smad3	下游:CTGGAGGTGGAAGTGGTAGCA	231
	上游:AGATGTCCAGGGAGCGGGAAG	
Runx2	下游:CCAGGTCCATGAGGGCTTCCT	214
	上游:CCACTGCCACCTTACTCTGC	
	下游:GGGAAACTGGGAGGTAGGA	

骨头组织骨小梁形态正常,排列整齐规则;与对照组比较,模型组大鼠骨小梁变细,排列稀疏,空骨陷窝率显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,治疗组大鼠股骨头组织病变程度有所减轻,骨小梁形态完整,空骨陷窝率显著降低($P<0.05$)。见图 1、表 2。

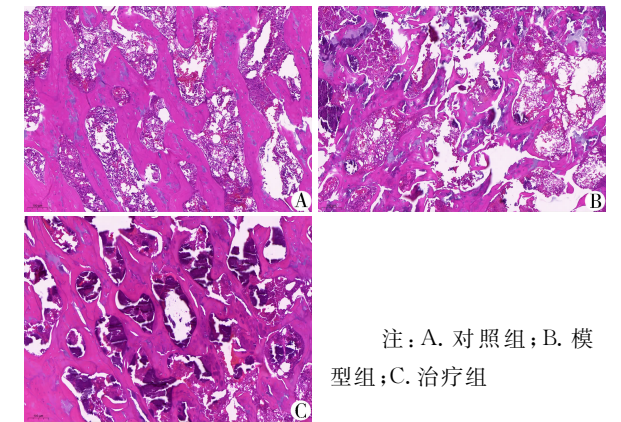


图 1 3 组大鼠股骨头组织形态比较(HE 染色,10×10 倍)

表 2 3 组大鼠股骨头中空骨陷窝率比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	空骨陷窝率/%
对照	3	7.61±1.29
模型	3	23.74±1.69*
治疗	3	13.96±1.08#

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$

3.3 3 组大鼠血清 BALP、PINP、β-CTX、TRACP 水平比较 与对照组比较,模型组大鼠血清 BALP、PINP 水平显著降低($P<0.05$),TRACP、β-CTX 水平显著升高($P<0.05$)。与模型组比较,治疗组大鼠血清 BALP、PINP 水平显著升高($P<0.05$),TRACP、β-CTX 水平显著降低($P<0.05$)。见表 3。

3.4 3 组大鼠股骨头中 TGF-β1、Smad2、Smad3、Runx2 表达水平比较 与对照组比较,模型组大鼠股骨头中 TGF-β1、Smad2、Smad3、Runx2 蛋白和 mRNA 表达水平均显著降低($P<0.05$);与模型组

比较,治疗组大鼠股骨头中 TGF-β1、Smad2、Smad3、Runx2 蛋白和 mRNA 表达水平均显著升高($P<0.05$)。见图 2、图 3、表 4。

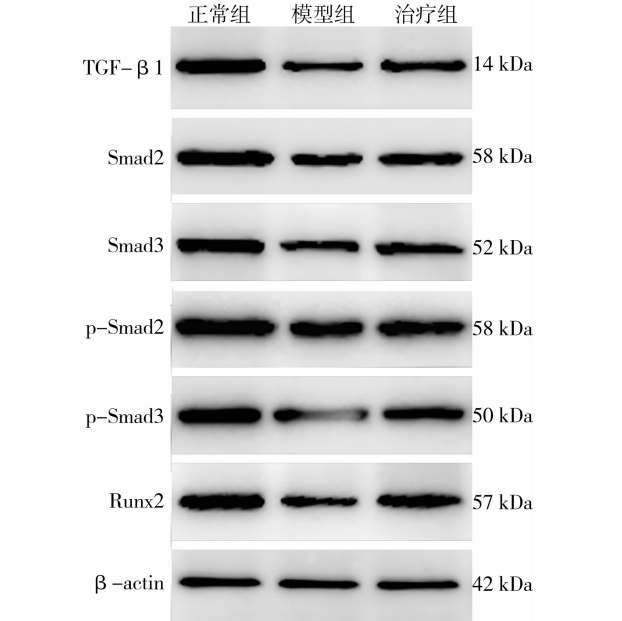
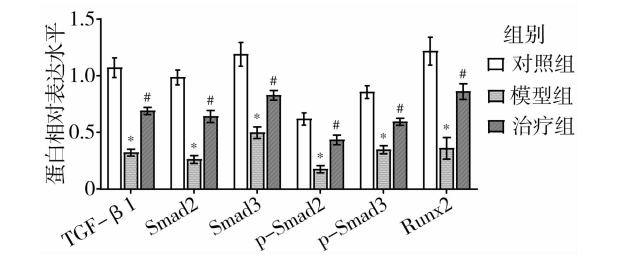


图 2 Western blot 法检测 3 组大鼠股骨头中 TGF-β1/Smads 通路相关蛋白表达水平



注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$

图 3 3 组大鼠股骨头中 TGF-β1/Smads 通路相关蛋白表达水平比较($n=3,\bar{x}\pm s$)

4 讨论

SONFH 可归属于中医学“骨痹”“骨蚀”“骨痿”范畴。《备急千金要方·骨极》:“夫骨极者,主肾也,肾应骨,骨与肾合。”《圣济总录·诸痹门》:“肾脂不长,则髓涸而气不行,骨乃痹,而其证内寒也。”肝肾亏虚,痰瘀阻滞血脉,筋骨不利为本病之基本病机^[18-19]。故以补肝肾、强筋骨、化痰瘀、利血脉为主要治法,同时强调利湿通阳,以达到补肾、活血、通络之功^[20-22]。骨痹通消颗粒化裁于丁锬教授之骨蚀宁方,并依据“久病入络”“病久及肾”的病机,参以补肾活血通络之法而成^[23]。方中当归、川芎补血行血利血脉,丹参、赤芍凉血化瘀以除瘀热;淫羊藿补肾助阳以扶阳气之根;续断补肝肾、强筋骨而入血脉,乃筋骨疾患之要药;佐以肉桂补火助阳、引火归元;廑虫破血逐瘀,搜剔筋骨间死血且能续筋接骨;使以甘

表 3 3 组大鼠血清 BALP、PINP、β-CTX、TRACP 水平比较(±s)

组别	n	BALP/(ng/mL)	PINP/(ng/mL)	β-CTX/(pg/mL)	TRACP/(μmol/L)
对照	3	53.68±3.64	21.98±1.72	61.17±4.68	36.94±1.35
模型	3	29.50±3.03*	10.55±1.05*	86.36±6.52*	58.71±3.72*
治疗	3	42.06±2.32 [#]	16.59±1.45 [#]	71.20±4.19 [#]	43.78±1.54 [#]

注:与对照组比较,**P*<0.05;与模型组比较,[#]*P*<0.05

表 4 3 组大鼠股骨头中 TGF-β1、Smad2、Smad3、Runx2 mRNA 表达水平比较(±s)

组别	n	TGF-β1 mRNA	Smad2 mRNA	Smad3 mRNA	Runx2 mRNA
对照	3	1.169±0.096	1.064±0.074	1.210±0.072	1.038±0.097
模型	3	0.440±0.035*	0.346±0.079*	0.655±0.057*	0.294±0.044*
治疗	3	0.774±0.080 [#]	0.760±0.072 [#]	0.937±0.052 [#]	0.799±0.047 [#]

注:与对照组比较,**P*<0.05;与模型组比较,[#]*P*<0.05

草培土益气,调诸药。诸药相伍,补泻兼施,标本兼顾,共奏补肾、活血、通络之功。

研究^[24-25]证实,TGF-β/Smads 信号通路对调控骨代谢平衡作用显著。TGF-β1 是该信号通路中促进成骨细胞分化增殖、抑制干细胞向破骨细胞分化,从而确保骨形成与骨吸收平衡的关键分子^[26-27]。Smads 蛋白家族在 TGF-β 的细胞内信号转导过程中具有重要作用,Smad2 和 Smad3 的磷酸化是 TGF-β1 信号传递的关键步骤,随后二者进入细胞核,与特定的 DNA 序列结合并激活下游靶基因^[28]。Runx2 作为 TGF-β1/Smads 信号通路的下游靶基因之一,对骨髓间充质干细胞向成骨细胞的分化具有决定性的影响,是成骨细胞分化的关键转录调节因子^[29-31]。糖皮质激素能够抑制 TGF-β1/Smads 信号通路,导致成骨细胞分化减少、骨量丢失,引发股骨头血管内皮细胞增殖抑制和血管成熟障碍,进一步加剧股骨头血液供应的减少,这一机制可能是 SONFH 发生的重要原因^[32]。

本研究中,模型组大鼠股骨头中 TGF-β1、Smad2、Smad3、p-Smad2、p-Smad3、Runx2 表达水平均显著降低;同时,血清骨形成标志物 BALP、PINP 表达水平显著下降,血清骨吸收标志物 β-CTX、TRACP 表达水平显著上升。这一结果可能是由于 TGF-β1/Smads 信号通路受到抑制,导致骨形成减少,骨吸收相对增强,从而造成骨代谢失衡。治疗组大鼠股骨头中 TGF-β1/Smads 通路相关蛋白及 mRNA 表达水平显著升高,同时,BALP 和 PINP 表达水平显著升高,β-CTX 与 TRACP 表达水平显著下降,表明骨痹通消颗粒可能通过调控 TGF-β1/Smads 信号通路,促进骨形成,同时抑制骨吸收,以此维持骨代谢平衡,对 SONFH 产生积极的治疗作用。

参考文献:

[1] KONARSKI W,POBOŻY T,ŚLIWCZYŃSKI A,et al. Avascular necrosis of femoral head-overview and current state of the art[J]. Int J Environ Res Public Health, 2022,19(12):7348.

[2] SULTAN A A,KHLOPAS A,SURACE P,et al. The use of non-vascularized bone grafts to treat osteonecrosis of the femoral head;indications,techniques,and outcomes[J]. Int Orthop,2019,43(6):1315-1320.

[3] 李时斌,赖渝,周毅,等. 激素性股骨头坏死发病机制及相关信号通路的靶点效应[J]. 中国组织工程研究, 2021,25(6):935-941.

[4] RAHMAN M S,AKHTAR N,JAMIL H M,et al. TGF-β/ BMP signaling and other molecular events:regulation of osteoblastogenesis and bone formation[J]. Bone Res,2015,3: 15005.

[5] YANG Y,NIAN H,TANG X,et al. Effects of the combined Herba *Epimedii* and Fructus *Ligustri lucidi* on bone turnover and TGF-β1/Smads pathway in GIOP rats[J]. J Ethnopharmacol,2017,201:91-99.

[6] ZHU Z,ZHANG C,SONG W. Rational derivation, extension,and cyclization of self-inhibitory peptides to target TGF-β/BMP signaling in ONFH[J]. Amino Acids, 2017,49(2):283-290.

[7] WU M,CHEN G,LI Y P. TGF-β and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease[J]. Bone Res,2016,4:16009.

[8] BAI Y,LIU Y,JIN S,et al. Expression of microRNA 27a in a rat model of osteonecrosis of the femoral head and its association with TGF β/Smad7 signalling in osteoblasts[J]. Int J Mol Med,2019,43(2):850-860.

[9] 侯文渊,朱磊,顾一帆,等. 骨痹通消颗粒治疗早中期非创伤性股骨头坏死 38 例[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2023,31(1):56-60.

[10] 周正新,朱磊,李文华,等. 中药骨痹通消颗粒通过调控 Wnt/β-catenin 通路治疗激素性股骨头坏死的实验研

- 究[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(1): 21-24.
- [11] 李胜, 朱彩玉, 顾一帆, 等. 骨痹通消颗粒调控 Wnt/PI3K-AKT 信号通路干预兔激素性股骨头坏死[J]. 海南医学院学报, 2023, 29(7): 523-529.
- [12] 方祥, 周正新, 朱磊, 等. 骨痹通消颗粒干预激素性股骨头坏死小鼠模型的作用及机制[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(16): 2599-2604.
- [13] 方祥, 周正新, 朱磊, 等. 基于 RANKL/RANK/OPG 信号轴探讨骨痹通消颗粒对激素性股骨头坏死模型小鼠的治疗作用[J]. 中国现代医学杂志, 2024, 34(7): 27-33.
- [14] 尚征亚, 曹林忠, 张翼, 等. 中药单体调控成骨相关信号通路治疗激素性股骨头坏死的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(18): 229-240.
- [15] 余开富, 谭洪波, 徐永清. 股骨头缺血性坏死动物模型制备的研究进展[J]. 中国修复重建外科杂志, 2015, 29(12): 1564-1569.
- [16] 杨国柱, 阮世纳, 潘翠萍, 等. 护骨胶囊灌服对大鼠激素性股骨头坏死的改善作用及机制[J]. 山东医药, 2022, 62(14): 19-24.
- [17] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 7.
- [18] 李雄, 袁浩. 袁浩教授对股骨头坏死中医药论治的学术思想[J]. 中国中医骨伤科, 1999, 7(1): 61-62.
- [19] 陈卫衡, 何伟, 童培建, 等. 股骨头坏死中医辨证标准(2019年版)[J]. 中医正骨, 2019, 31(6): 1-2.
- [20] 赵文海, 王占长. 刘柏龄教授诊治股骨头无菌性坏死的经验[J]. 长春中医药大学学报, 1992, 8(1): 3-4.
- [21] 周正新. 袁浩教授论治股骨头缺血性坏死的学术特点[J]. 中医正骨, 2003, 15(6): 56-57.
- [22] 周正新, 刘安平, 王峰, 等. 丁锬论治股骨头缺血性坏死的学术特点[J]. 中医药临床杂志, 2007, 19(3): 209-210.
- [23] 李春峰, 孙志涛, 周正新. 不同剂量骨蚀宁胶囊对兔激素性股骨头坏死微循环的影响[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(20): 3723-3729.
- [24] GU Z, XIE D, HUANG C, et al. MicroRNA-497 elevation or LRG1 knockdown promotes osteoblast proliferation and collagen synthesis in osteoporosis via TGF- β 1/Smads signalling pathway[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(21): 12619-12632.
- [25] PAN F Y, LI Z M, LIU X W, et al. Effect of strontium ranelate on rabbits with steroid-induced osteonecrosis of femoral head through TGF- β 1/BMP2 pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(3): 1000-1006.
- [26] TAHA I M, ABDU ALLAH A M, HAMOUDAH M A F, et al. Transforming growth factor- β 1 gene polymorphism and osteoporosis in postmenopausal Egyptian women[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2017, 63(11): 53-57.
- [27] 代光明, 任磊, 陈虹, 等. 下调骨细胞 TGF- β /Smad4 信号可抑制小鼠 BMSCs 成骨及破骨分化[J]. 基础医学与临床, 2017, 37(6): 786-791.
- [28] LIANG Y, ZHU B, LI S, et al. Curcumin protects bone biomechanical properties and microarchitecture in type 2 diabetic rats with osteoporosis via the TGF β /Smad2/3 pathway[J]. Exp Ther Med, 2020, 20(3): 2200-2208.
- [29] KOMORI T. Runx2, an inducer of osteoblast and chondrocyte differentiation[J]. Histochem Cell Biol, 2018, 149(4): 313-323.
- [30] WU X, ZHANG Y, GUO X, et al. Identification of differentially expressed microRNAs involved in non-traumatic osteonecrosis through microRNA expression profiling[J]. Gene, 2015, 565(1): 22-29.
- [31] HAN N, LI Z, CAI Z, et al. P-glycoprotein overexpression in bone marrow-derived multipotent stromal cells decreases the risk of steroid-induced osteonecrosis in the femoral head[J]. J Cell Mol Med, 2016, 20(11): 2173-2182.
- [32] WEINSTEIN R S. Glucocorticoid-induced osteoporosis and osteonecrosis[J]. Endocrinol Metab Clin North Am, 2012, 41(3): 595-611.

(收稿日期: 2024-06-09)

Intervention Effect of Gubi Tongxiao Granule on A Rat Model of Steroid-induced Osteonecrosis of the Femoral Head by Regulating the Transforming Growth Factor- β 1/Smads Signaling Pathway

ZHANG Zongyi, WU Ganggui, ZHU Shouxu, BAI Lang, YANG Jianao, ZHOU Zhengxin, ZHU Lei
(The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Anhui Hefei 230031, China)

[Abstract] Objective To investigate the effect of Gubi Tongxiao Granule on the transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)/Smads signaling pathway in rats with steroid-induced osteonecrosis of the femoral head (SONFH). **Methods** A total of 30 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into control group with 6 rats, model group with 12 rats, and treatment group with 12 rats. A rat model of SONFH was established by combined injection of lipopolysaccharide and methylprednisolone. Hematoxylin and eosin staining was used to observe the histomorphology of the femoral head; ELISA was used to measure the serum levels of bone alkaline phosphatase (BALP), procollagen type I N-terminal propeptide (PINP), tartrate-resistant acid