

- 13 叶 星,郭光良,彭勇新.真菌性上颌窦炎的手术进路选择[J].中国耳鼻咽喉头颈外科,2012,19(2):104-105.
- 14 刘 澍,薛少飞,赵玉琴,等.鼻内镜下泪前隐窝入路治疗上颌窦良性病变[J].中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2012,18(5):370-373.
- 15 杨 峰,刘华涛,陈肇臻.双侧孤立性真菌球型蝶窦炎[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2013,27(14):795-796.
- 16 Ng YH,Sethi DS. Isolated sphenoid sinus disease: differential diagnosis and management[J]. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg, 2011,19(1):16-20.
- 17 邵 渊,李宏慧,权 芳.鼻内镜下额窦手术70例分析[J].陕西医学杂志,2013,42(10):1348-1350.

[收稿日期 2016-08-22][本文编辑 刘京虹]

## 课题研究·论著

# VEGF 通路对体外冲击波联合仙桃草治疗骨不连骨痂中成骨细胞增殖作用的影响

赵子星, 李宏宇, 席立成, 郁少林, 刘搏宇

基金项目: 广西医疗卫生重点科研课题(编号:重2011120); 广西卫计委中医药科技专项面上课题(编号:GZPT1242); 广西适宜卫生技术研发推广人才小高地项目(编号:006011)

作者单位: 530001 南宁,广西中医药大学(赵子星,席立成,郁少林); 530021 南宁,广西壮族自治区人民医院骨科(李宏宇,刘搏宇)

作者简介: 赵子星(1990-),男,在读硕士研究生,研究方向:关节外科、创伤骨科疾病的诊治。E-mail:1183488354@qq.com

通讯作者: 李宏宇(1966-),男,医学博士,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:关节外科、创伤骨科疾病的诊治。E-mail:lihongyu36@sohu.com

**[摘要]** 目的 探讨血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)通路对体外冲击波联合仙桃草治疗兔桡骨骨不连骨痂中成骨细胞增殖作用的影响。方法 制作100只兔桡骨骨不连模型,造模成功后随机分为四组:A组为体外冲击波联合仙桃草治疗组,B组为单纯仙桃草治疗组,C组为单纯体外冲击波治疗组,D组为完全对照组。于治疗后不同时相点(第1、2、4、8、12周)分别取材,H-E染色观察成骨细胞计数,免疫组织化学观察VEGF表达情况。结果 体外冲击波联合仙桃草治疗组能够加速成骨细胞增殖并上调VEGF表达,与其他三组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。其中,成骨细胞增殖与VEGF表达的变化曲线大致相同,于第2周后明显增多,第8周到达峰值,第12周时较前稍降低,但数量仍较多。结论 体外冲击波联合仙桃草治疗骨不连效果安全可靠,其机制可能是通过对骨痂中VEGF细胞因子的影响,促进成骨细胞的增殖,来达到治疗骨不连的目的。

**[关键词]** 体外冲击波; 仙桃草; 骨不连; 成骨细胞; 血管内皮生长因子

**[中图分类号]** R 68 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2017)03-0205-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2017.03.03

**Effects of VEGF on the proliferations of osteoblast in callus in the treatment of fracture nonunion by extracorporeal shock wave combined with veronica peregrina** ZHAO Zi-xing, LI Hong-yu, XI Li-cheng, et al. Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530021, China

**[Abstract]** **Objective** To study effects of vascular endothelial growth factor(VEGF) on the proliferations of osteoblast in callus in the treatment of fracture nonunion by extracorporeal shock wave combined with veronica peregrina. **Methods** One hundred New Zealand white rabbits were selected to make a model of bone nonunion of radius. They were randomly divided into four groups. Group A was treated by extracorporeal shock wave combined with veronica peregrina. Group B was treated by extracorporeal shock wave. Group C was treated with veronica peregrina and group D was taken as the control group. The samples in each group were collected at the end of 1, 2, 4, 8 and 12 weeks respectively after the therapies, and hematoxylin-eosin stain was used to assess the osteoblast counts. VEGF

expression was assessed by immunohistochemistry. **Results** Compared with those in the other three groups, the proliferation of osteoblast was significantly increased and the expression of VEGF was up-regulated in group A ( $P < 0.01$ ). The osteoblast counts and the expression of VEGF shared a similar changing trend. The osteoblast counts in each group started to increase obviously at 2 weeks and reached a peak at 8 weeks, and then went down at 12 weeks and persisted on a high level. **Conclusion** Extracorporeal shock wave combine with veronica peregrina is safe and effective to treat fracture nonunion. The mechanism involves up-regulating the expression of VEGF and inducing the proliferation of osteoblast.

[**Key words**] Extracorporeal shock wave; Veronica peregrina; Fracture nonunion; Osteoblast; Vascular endothelial growth factor(VEGF)

目前治疗骨不连的方法很多,新的技术和治疗手段也层出不穷。但骨不连治疗周期长、疗效不肯定、费用高等仍是骨科医师面临的难题。此外,其手术创伤大、多次手术给病人造成的巨大心理恐惧等问题,使越来越多的学者主张早期行非创伤性治疗方案。体外冲击波(extracorporeal shock wave, ESW)自从运用到骨科领域以来,其功效一直受到大多数学者的肯定<sup>[1]</sup>;仙桃草具有活血止血、消肿止痛的作用<sup>[2]</sup>。二者在骨折、骨不连治疗方面均有一定疗效。本研究 2013-04 ~ 2013-12 在广西壮族自治区人民医院动物实验中心制作左侧兔桡骨骨不连模型,并施以四种不同治疗方案。拟探讨体外冲击波联合仙桃草在治疗骨不连方面的效果,并对其作用机制作初步探讨。

**1 材料与方**

**1.1 实验材料** 选用标准实验新西兰大白兔制作 100 只兔左侧桡骨骨不连模型,按随机数字表法分为四组,A 组为体外冲击波联合仙桃草治疗组,B 组为仙桃草治疗组,C 组为体外冲击波治疗组,D 组为对照组,每组各 25 只。

**1.2 研究方法**

**1.2.1 骨不连模型制作** 兔耳缘静脉麻醉后截除座侧桡骨中段 1 cm(包括骨膜),盐水冲洗,彻底止血,填塞明胶海绵,缝合伤口,青霉素肌注 30 U,连续 3 d,常规喂养 3 个月后,X 线片示右侧桡骨骨不连形成,模型制作成功。

**1.2.2 治疗方法** (1)体外冲击波治疗:耳缘静脉麻醉下,A、C 两组动物采用体外冲击波碎石机(德国多尼尔小王子)治疗,焦点能量 0.5 mj/mm<sup>2</sup>,频率 70 ~ 80 次/min,冲击量 800 次,焦点聚焦范围 1.5 cm<sup>2</sup>,分别对骨折远、近端边缘进行冲击治疗,治疗后放回笼中。(2)仙桃草治疗:将仙桃草磨成粉剂加入到精饲料中混合成制备饲料,A、B 两组每日每只兔子喂养制备饲料(含精饲料 60 g,仙桃草 1 g),其中 A 组于体外冲击波治疗后第 1 天起给药。而 C、D 组则喂养等量精饲料。

**1.2.3 成骨细胞计数 H-E 染色光镜下观察** 各组治疗后第 1、2、4、8、12 周,以空气栓塞法随机处死各实验组动物 5 只,取原骨不连处长约 1.5 ~ 2.0 cm 组织,4% 多聚甲醛溶液固定,10% EDTA 脱钙液脱钙,乙醇梯度脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,HE 染色处理,4 μm 连续切片,封片,在低倍镜下找到骨小梁位置后(分布骨小梁周围,细胞体积大,胞浆蓝染),换成 40 倍镜,依次按照上下左右顺序,选取 5 个骨小梁区域进行成骨细胞计数<sup>[3]</sup>。

**1.2.4 VEGF 表达免疫组织化学染色观察** 4 μm 组织切片常规脱蜡入水,PBS 冲洗 3 次,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 抑制内源性过氧化物酶活性并进行微波抗原修复,PBS 冲洗 3 次,加入非免疫动物血清以减少非特异性背景,加入一抗、二抗,二氨基联苯胺(DAB)显色,水洗,苏木精浅染,二甲苯透明,封片。Olympus 光学显微镜盲法观察,Imagepro Plus 6.0 图像软件对阳性反应细胞的平均光密度值(MOD)进行分析。

**1.3 统计学方法** 应用 SPSS19.0 软件进行数据分析,计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用析因设计资料的方差分析,组间两两比较采用  $q$  检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 各组成骨细胞计数比较** 各治疗组不同时间点成骨细胞计数均呈上升趋势,其中以 A 组最为明显,并在第 8 周时达到峰值(121.02 ± 2.16)。方差齐性检验结果显示,方差齐( $F = 31.271, P = 0.220$ )。析因设计资料方差分析结果显示,不同处理组对成骨细胞计数有影响( $F_{\text{组别}} = 8.670, P_{\text{组别}} = 0.001$ ),不同时间点对成骨细胞计数间无影响( $F_{\text{时间}} = 1.332, P_{\text{时间}} = 0.127$ ),不认为处理组与时间点有交互作用( $F_{\text{组别} \times \text{时间}} = 0.699, P_{\text{组别} \times \text{时间}} = 0.435$ )。各处理组间两两比较差异性显著( $P < 0.05$ ),其中第 12 周时 B、C 两组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1。

**2.2 各组 VEGF 表达比较** 各治疗组不同时间点 VEGF 表达均呈上升趋势,其中以 A 组最为明显,并

在第8周时达到峰值(0.077 ± 0.002)。方差齐性检验结果显示,方差齐( $F = 6.624, P = 0.629$ )。析因设计资料方差分析结果显示,不同处理组对 VEGF 表达有影响( $F_{\text{组别}} = 310.120, P_{\text{组别}} = 0.006$ ),不同时间点对 VEGF 表达无影响( $F_{\text{时间}} = 43.240, P_{\text{时间}} = 0.220$ ),不认为处理组与时间点有交互作用( $F_{\text{组别} \times \text{时间}} = 102.964, P_{\text{组别} \times \text{时间}} = 0.120$ )。各处理组间两两比较差异性显著( $P < 0.05$ ),其中第1周时 A、C 两组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),第4、8、12周时 B、C 两组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表1。

表1 各处理组不同时间点成骨细胞计数、VEGF 表达比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	时点	成骨细胞计数	VEGF
A组	25	第1周	53.28 ± 1.36	0.059 ± 0.002*
		第2周	98.08 ± 1.81	0.065 ± 0.001
		第4周	110.02 ± 1.94	0.070 ± 0.007
		第8周	121.02 ± 2.16	0.077 ± 0.002
		第12周	108.07 ± 1.36	0.062 ± 0.002
B组	25	第1周	34.36 ± 1.30	0.048 ± 0.002
		第2周	73.70 ± 0.87	0.052 ± 0.001
		第4周	84.76 ± 1.35	0.059 ± 0.004 <sup>△</sup>
		第8周	97.94 ± 1.99	0.068 ± 0.002 <sup>△</sup>
		第12周	92.14 ± 1.58 <sup>△</sup>	0.050 ± 0.002 <sup>△</sup>
C组	25	第1周	37.44 ± 0.96	0.054 ± 0.002
		第2周	77.64 ± 1.24	0.060 ± 0.002
		第4周	91.30 ± 1.76	0.063 ± 0.002
		第8周	104.44 ± 1.35	0.072 ± 0.003
		第12周	93.44 ± 0.76	0.054 ± 0.003
D组	25	第1周	21.74 ± 0.65	0.036 ± 0.002
		第2周	51.24 ± 1.33	0.043 ± 0.002
		第4周	67.26 ± 1.04	0.049 ± 0.001
		第8周	77.86 ± 11.37	0.050 ± 0.002
		第12周	67.36 ± 0.80	0.038 ± 0.004
$F_{\text{组别}}$	-	8.670	310.120	
$F_{\text{时间}}$	-	1.332	43.240	
$F_{\text{组别} \times \text{时间}}$	-	0.699	102.964	
$P_{\text{组别}}$	-	0.001	0.006	
$P_{\text{时间}}$	-	0.127	0.220	
$P_{\text{组别} \times \text{时间}}$	-	0.435	0.120	

注: B组与C组同一时间点比较, <sup>△</sup> $P > 0.05$ ; A组与C组同一时间点比较, \* $P > 0.05$

2.3 成骨细胞计数与 VEGF 表达随时间的变化趋势 各组不同时间点成骨细胞计数与 VEGF 表达均随时间的推移而增加,其中 A 组较其他三组增加明显,并在第8周时出现最高值,两者变化曲线相一致。

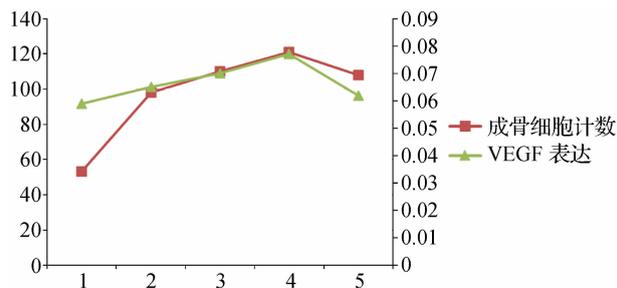


图1 A组各时间点成骨细胞计数与 VEGF 表达随时间的变化趋势图

### 3 讨论

3.1 骨不连是指骨折经过治疗后超出正常愈合时间,延长治疗后仍未能达骨性愈合(骨折8个月后),临床发生率约为5%~10%<sup>[4]</sup>。造成骨不连的因素很多,除感染、手术操作外,年龄、性别、吸烟、服用非甾体类抗炎药和代谢性疾病也都是骨不连发生的相关危险因素<sup>[5]</sup>。治疗骨不连的方法繁多,但其终端效应都在于促进成骨细胞的增殖。成骨细胞在骨不连愈合过程中发挥着重要作用<sup>[6]</sup>,任何骨重建的最终机制都是通过成骨细胞的增殖来完成的。VEGF 是一个重要的促进血管内皮细胞有丝分裂的因子,它通过刺激血管内皮细胞增殖、迁移来促进血管新生<sup>[7]</sup>。

3.2 本实验证实,体外冲击波联合仙桃草治疗组在促进成骨细胞的增殖和正调控 VEGF 表达方面均较其他三组强( $P < 0.05$ ),体外冲击波或仙桃草治疗与对照组比较差异也有统计学意义( $P < 0.05$ )。这说明体外冲击波和中草药仙桃草均能促进成骨细胞的增殖和正调控 VEGF 表达,两者联合应用,效果更佳。作为一种外来刺激,体外冲击波可以同时促进成骨细胞及成纤维细胞的表达<sup>[8]</sup>,刺激骨膜生发层细胞和未分化间充质细胞,使骨小梁周围的成骨细胞大量增殖,骨断端区纤维、软骨组织骨化。Cacchio<sup>[9]</sup>认为,对于长骨肥大型骨不连,其疗效甚至与手术相当,且短期临床效果更好。同样,NADPH 氧化酶阻断法证实了经体外冲击波作用后成骨细胞中 VEGF 的分泌水平升高<sup>[10]</sup>,表明成骨细胞的增殖与 VEGF 的表达存在着密切的联系。仙桃草在骨科中的应用已有数千年历史,中医认为其在促进骨愈合方面有独特的优势,通过内服外用能达到活血化瘀、消肿止痛的功效,进而加速骨折的愈合。有研究证实,仙桃

草促进骨愈合的机制可能是通过促进成骨细胞增殖分化而产生效果的,它能够加速骨痂生成,促进成骨<sup>[11]</sup>。同样,仙桃草在治疗骨折过程中也能够促进骨痂中 VEGF 表达<sup>[12]</sup>。这些都与仙桃草含有多种活跃骨细胞的化学成分有关。

**3.3** 本实验亦表明,成骨细胞计数与 VEGF 表达的关系曲线呈正相关,两者增长趋势相近。关于两者是否存在必然的内在联系,笔者认为,其机制可能是体外冲击波联合仙桃草通过 VEGF 通路对成骨细胞增殖产生作用,进而促进骨愈合。VEGF 的强阳性表达可以促进骨不连断端微小血管的新生,为骨痂组织带来大量的血供和营养物质,这其中就包括与成骨细胞增殖密切相关的骨形态蛋白 2 (BMP-2) 等重要因子,进而促进成骨细胞的快速增殖,加速骨痂骨化。但 VEGF 通路促进成骨细胞增殖的具体靶点及内在机制,还需要进一步研究。

综上所述,体外冲击波联合仙桃草治疗骨不连效果安全可靠,其机制可能是通过对骨痂中 VEGF 细胞因子的影响,促进骨不连区成骨细胞的增殖,来达到治疗骨不连的目的。

**参考文献**

1 李宏宇,梁 斌,金先跃. 体外冲击波治疗四肢骨折内固定术后骨不连[J]. 中国矫形外科,2011,19(2):175 - 176.  
 2 杨彦君,熊 屹,程志刚,等. 苗药九仙罗汉接骨汤干预胫骨干骨折不同相点的 X 射线比较[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16 (50):9311 - 9315.

3 陈苏平,李 平. ESWT 对兔成骨细胞增殖影响的实验研究[J]. 当代医学,2012,18(4):150 - 152.  
 4 Kuroda R, Matsumoto T, Niikura T, et al. Local transplantation of granulocyte colony stimulating factor-mobilized CD34 + cells for patients with femoral and tibial nonunion:pilot clinical trial[J]. Stem Cells Transl Med,2014,3(1):128 - 134.  
 5 Taormina DP, Shulman BS, Karia R, et al. Older age does not affect healing time and functional outcomes after fracture nonunion surgery [J]. Geriatr Orthop Surg Rehabil,2014,5(3):116 - 121.  
 6 Burgers TA, Hoffmann MF, Collins CJ, et al. Mice lacking pten in Osteoblasts have improved intramembranous and late endochondral fracture healing[J]. PLoS One,2013,8(5):e63857.  
 7 Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors[J]. Nat Med, 2003, 9(6):669 - 676.  
 8 Hausdorf J, Sievers B, Schmitt-Sody M, et al. Stimulation of bone growth factor synthesis in human osteoblasts and fibroblasts after extracorporeal shock wave application [J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2011,131(3):303 - 309.  
 9 Cacchio A, Giordano L, Colafarina O, et al. Extracorporeal shock-wave therapy compared with surgery for hypertrophic long-bone non-unions[J]. J Bone Joint Surg Am,2009, 91(11):2589 - 2597.  
 10 Wang FS, Wang CJ, Chen YJ, et al. Ras induction of superoxide activates ERK-dependent angiogenic transcription factor HIF-1 alpha and VEGF-A expression in shock wave-stimulated osteoblasts[J]. J Biol Chem, 2004, 279(11):10331 - 10337.  
 11 吕奉清. 交锁髓内钉联合鹿瓜多肽跳骨片治疗桡骨多段骨折的临床观察[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2011,19(1):49.  
 12 方 芳,王平珍,邱 芸. 仙桃草促进骨折愈合机制探讨[J]. 中国民族民间医药杂志,2014,23(21):15.

[收稿日期 2016 - 07 - 22][本文编辑 杨光 and]

## 《国外英文生物医学期刊中文译名对照手册》

### 邮 购 启 事

随着医学科学和信息技术的快速发展,医学学术论文写作和医学期刊编辑出版的标准化、规范化的要求越来越严格。目前我国生物医学药学类期刊已达 1 400 多种,每年所刊发的学术论文数十万篇,但我们在长期的期刊编辑工作中发现,在众多的医学论文中发生引用、参考、著录、编译外文医学期刊期名不全、不规范、不标准、错漏及缩写语不正确等问题较为普遍,严重影响了论文和期刊的学术质量。因此,为了更方便、有效、快捷地使广大的医药卫生科技人员和广大的读者、论文作者、期刊编者全面、正确地掌握和标准、规范使用和参考及著录国外英文期刊及缩写语,我们收集了国外 3 000 多种英文生物医学、药学期刊,对其规范的英文全名、缩写语和中文名称进行了编译,并注明出版(地),按英文字母顺序进行编排,便于读者、论文作者和期刊编者查阅和对照。本书能有效地帮助广大的医学科研、教学、临床业务人员,在校的博士生、硕士生、本科生,医学期刊编辑人员和图书情报信息人员解决在撰写、修改和编辑科研报告、学位论文,学术论文中查阅、参考外文医学期刊不方便,引用、著录不规范、不标准的问题,以提高广大医学业务技术人员学术论文写作的水平和期刊的编辑学术质量。

本书大 32 开本,彩色封面,精美印刷,已由接力出版社出版,每册售价 20 元,由《中国临床新医学》杂志编辑部发行。订阅者请通过邮局直接汇款(书价 20 元,挂号邮寄费 5 元,共计 25 元)到编辑部订购(请在汇单上注明“购手册”)。款到即发书并开具正式发票。

汇款邮编、单位及地址:530021 广西南宁市桃源路 6 号《中国临床新医学》杂志编辑部  
 收款人:韦 颖