

活血通痹方通过调控凝血-骨代谢网络干预激素性股骨头坏死经脉痹阻证的临床与功效机制研究

董芃萱^{1,2}, 宓保宏^{1,2}, 林娜³, 张彦琼^{3*}, 陈卫衡^{1,2,4*}

(1. 北京中医药大学 第三附属医院, 北京 100029;

2. 中医骨伤治疗与运动康复智能化教育部工程研究中心, 北京 100029;

3. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;

4. 北京中医药大学 骨伤科研究所, 北京 100029)

[摘要] 探讨活血通痹方治疗激素性股骨头坏死(SONFH)经脉痹阻证患者的临床疗效及其作用机制。回顾性纳入 40 例 SONFH 经脉痹阻证患者,收集比较治疗前及治疗 3 个月后的口学特征、临床疗效评分(疼痛 VAS 评分、髋关节屈曲功能评分)、Harris 评分、髋关节内外旋功能、髋关节影像学评分[国际骨循环研究会(ARCO)分期、北京中医药大学 X 线评价(BUC-MXE)、骨髓水肿、关节积液]、髋关节症状/证候评分、理化指标(血常规、凝血四项、血栓四项)。选取 3 例临床疗效显著患者治疗前后外周血样进行转录组测序,筛选差异表达基因(DEGs),并进行基因本体论(GO)功能富集、京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集、蛋白-蛋白互作(PPI)网络分析。通过 Spearman 相关性分析鉴定与 SONFH 经脉痹阻证核心表型最相关的基因。结果显示,活血通痹方能显著改善患者临床疗效评分(疼痛 VAS 评分、髋关节屈曲功能评分)、Harris 评分、髋关节内外旋功能($P<0.01$),维持影像学评分稳定,改善多种血瘀相关临床症状(如髋关节痛、固定痛、下肢无力等)($P<0.05$, $P<0.001$),显著降低凝血酶-抗凝血酶复合物(TAT)水平($P<0.01$)。转录组学分析共筛选出 368 个 DEGs(上调 274 个,下调 94 个)。GO 功能富集显示,DEGs 参与的生物过程主要有对肿瘤坏死因子产生的正调控、整合素介导的信号通路、中性粒细胞趋化性、调节肿瘤坏死因子的产生等;KEGG 通路富集显示,DEGs 主要参与造血细胞谱系、破骨细胞分化、补体和凝血级联反应、血小板激活等通路。PPI 网络结合相关性分析鉴定出核心基因 UBA52($r=0.83$, $P<0.05$)、RACK1($r=0.88$, $P<0.05$)、RPL19($r=-0.87$, $P<0.05$)与血瘀证评分显著相关;CD74 与骨坏死病变评分($r=0.95$, $P<0.05$)和 TAT($r=0.88$, $P<0.05$)显著相关。结果表明,活血通痹方通过调节造血、骨代谢(抑制破骨)、纠正高凝状态(抑制凝血活化)改善 SONFH 经脉痹阻证患者的临床症状与部分影像学指标,UBA52、RACK1、RPS3A 等核心基因可能是连接血瘀证与凝血-骨代谢网络调控的关键分子。

[关键词] 活血通痹方; 激素性股骨头坏死; 经脉痹阻证; 血瘀证; 临床回顾性研究; 转录组学

Clinical and mechanistic study of Huoxue Tongbi Formula in intervening meridian blockage syndrome of steroid-induced osteonecrosis of femoral head by regulating coagulation-bone metabolism network

DONG Peng-xuan^{1,2}, MI Bao-hong^{1,2}, LIN Na³, ZHANG Yan-qiong^{3*}, CHEN Wei-heng^{1,2,4*}

(1. the Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2. Engineering Research Center of Chinese Orthopaedic and Sports Rehabilitation Artificial Intelligence, Ministry of Education, Beijing 100029, China;

3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

4. Institute of Orthopedics and Traumatology, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[收稿日期] 2025-08-13

[基金项目] 国家自然科学基金重点项目(82030122);国家自然科学基金面上项目(82474548)

[通信作者] * 陈卫衡, 博士, 主任医师, 博士生导师, 主要从事骨关节疾病的临床和基础研究, E-mail: drchenweihe@163.com; * 张彦琼, 研究员, 主要从事临床中药学研究, E-mail: yqzhang@icmm.ac.cn

[作者简介] 董芃萱, 硕士研究生, E-mail: Bucmdongpengxuan@163.com

[Abstract] This study aims to investigate the clinical efficacy and underlying mechanism of Huoxue Tongbi Formula in treating patients with steroid-induced osteonecrosis of the femoral head (SONFH) with meridian blockage syndrome. A total of 40 patients with SONFH and meridian blockage syndrome were retrospectively enrolled. Demographic data, clinical efficacy scores (pain and hip joint function), Harris scores, hip joint range of motion, imaging indices (ARCO stage, BUCMXE, bone marrow edema, and joint effusion), symptom/syndrome scores, and coagulation-related physiochemical indices (complete blood count, four coagulation tests, and four thrombosis tests) were collected and compared before treatment and after three months of treatment. Peripheral blood samples from three patients with significant efficacy were subjected to transcriptome sequencing before and after treatment to screen differentially expressed genes (DEGs). GO and KEGG enrichment and PPI network analysis were performed. Genes most relevant to the core phenotype of SONFH with meridian blockage syndrome were identified using Spearman correlation analysis. The results showed that Huoxue Tongbi Formula significantly improved the clinical efficacy scores (including pain and hip joint flexion function), Harris scores, and range of internal and external rotation of the hip ($P < 0.01$). It also maintained stable imaging indices, alleviated various blood stasis-related clinical symptoms (hip pain, fixed pain, lower limb weakness) ($P < 0.05$, $P < 0.001$), and significantly reduced thrombin-antithrombin complex (TAT) levels ($P < 0.01$). Transcriptome analysis identified 368 DEGs (274 upregulated and 94 downregulated). GO functional enrichment revealed that the biological processes involved by DEGs mainly include positive regulation of tumor necrosis factor production, integrin-mediated signaling pathways, neutrophil chemotaxis, and regulation of tumor necrosis factor production. KEGG enrichment analysis revealed that these DEGs were primarily involved in pathways such as hematopoietic cell lineage, osteoclast differentiation, complement and coagulation cascades, and platelet activation. PPI network analysis combined with correlation analysis identified core genes UBA52 ($r = 0.83$, $P < 0.05$), RACK1 ($r = 0.88$, $P < 0.05$), and RPL19 ($r = -0.87$, $P < 0.05$) were significantly correlated with blood stasis syndrome scores. CD74 was significantly correlated with osteonecrotic lesions ($r = 0.95$, $P < 0.05$) and TAT ($r = 0.88$, $P < 0.05$). These findings indicate that Huoxue Tongbi Formula ameliorates clinical symptoms and certain imaging indices in SONFH patients with meridian blockage syndrome by regulating hematopoiesis and bone metabolism (inhibiting osteoclast activity) and correcting hypercoagulability (inhibiting coagulation activation). Core genes such as UBA52, RACK1, and RPS3A may be key molecules linking blood stasis syndrome to the regulation of the coagulation-bone metabolism network.

[Key words] Huoxue Tongbi Formula; steroid-induced osteonecrosis of the femoral head; meridian blockage syndrome; blood stasis syndrome; clinical retrospective study; transcriptomics

DOI:10.19540/j.cnki.cjmm.20250930.501

股骨头坏死 (ONFH) 又称缺血性坏死 (AVN), 是骨科常见病、疑难病^[1]。由于发病机制与骨内循环中断和最终骨组织死亡紧密相关^[2], 因此 ONFH 又有“股骨头的冠心病”^[3]之称。中医药在缓解早、中期 ONFH 患者症状, 预防股骨头塌陷, 提高患者生活质量, 推迟甚至避免人工关节置换等方面发挥了显著疗效, 已成为 ONFH 治疗的重要手段^[4]。中医认为 ONFH 属于“骨蚀”“骨痹”“骨痿”等范畴, 病理因素包括“痰”“瘀”“虚”^[5-8], 其中“瘀”^[9-11]不仅最重要, 而且贯穿疾病全程^[12-13]。

活血通痹方 (曾用名活骨 II 号、活血通络方、活骨 II 方) 由补阳还五汤化裁而成, 是陈卫衡教授针对 ONFH 经脉痹阻证创立的对证方剂。前期多项临床与基础研究^[14-21]显示, 该方可能通过调节骨代谢, 纠正血液流变异常, 参与免疫炎症反应等发挥减轻疼痛、改善关节功能、提高患者生存质量的作用。然而, 该方治疗激素性股骨头坏死 (SONFH) 经脉痹

阻证的优势疗效环节和作用机制均不明确。转录组学作为从整体水平研究特定条件下细胞基因转录调控规律的学科^[22], 深度契合中医整体观。因此, 本研究采用转录组测序技术, 旨在全面深入揭示活血通痹方干预 SONFH 经脉痹阻证的生物学内涵, 研究技术路线见图 1。

1 资料与方法

1.1 数据来源 回顾性选取 2021 年 7 月至 2025 年 3 月于北京中医药大学第三附属医院骨伤中心就诊的 SONFH 经脉痹阻证患者, 且服用活血通痹方 1 个疗程 (3 个月) 后显效的相关资料。研究经北京中医药大学第三附属医院伦理委员会批准 (批准号 BZYSY-2021KYKTPJ-01)。

1.2 诊断、分期、辨证及疗效标准 ONFH 诊断标准参考《中国成人股骨头坏死临床诊疗指南 (2020)》^[23]; 分期标准参考国际骨循环研究会 (ARCO) 2019 年更新版^[1]; 辨证标准参考《股骨头坏死

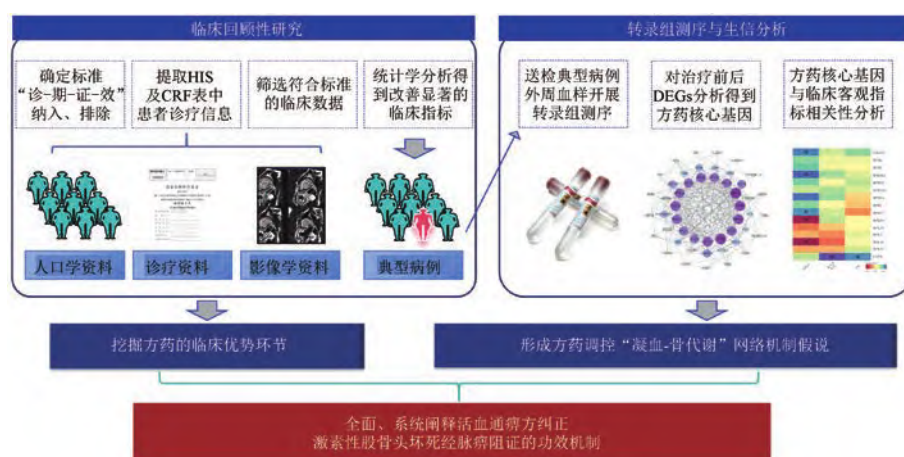


图1 研究技术路线

Fig. 1 Research technology roadmap

中医辨证标准(2019年版)》^[24];疗效标准参考《股骨头坏死中医疗效评价标准(2019年版)》^[25]。

1.3 纳入标准 符合 ONFH 诊断及经脉痹阻证标准;治疗期间服用活血通痹方 1 个疗程(3 个月);髋关节磁共振和 X 线等影像齐全,病历资料完备;年龄 ≥ 15 岁;患者签署知情同意书,愿意参加研究。

1.4 排除标准 原发病病情严重,可能影响血瘀证表现者;正在使用影响凝血功能药物者;存在明确或可疑其他髋关节疾病可能会影响研究结果者;已接受髋关节置换者。符合上述其中 1 项者,即予排除。

1.5 治疗方案 基础治疗:确诊后立即进行保护性负重至少 6 个月,住院患者根据病情选择中药动脉灌注、髓芯减压术、同种异体骨植骨术、髋关节冲洗、富血小板血浆注射、可视化 CT 引导下针刀松解术等中西医结合保髋手术。中药处方:黄芪、当归、地龙、川芎、赤芍、桃仁、红花、牛膝。日 1 剂,水煎服,早晚分服,每次 200 mL,服用 1 个疗程(3 个月)。

1.6 观察指标 收集患者治疗前与治疗 3 个月后的病历、量表评分、影像学检查、理化检测指标,由高年资医师综合评价,涵盖以下 6 个方面。①人口学特征,按照临床科研设计、衡量、评价要求设计调查表,包含年龄、性别、体质量指数(BMI)、病程、病史(原发病、激素使用史)等一般情况,临床体征与症状,实验室检查,现阶段病情(股骨头坏死中医疗效评价标准)。②临床疗效评分,参考《股骨头坏死中医疗效评价标准(2019 年版)》^[25]进行疗效评价。③髋关节功能评分,包含 Harris 评分^[26]、髋关节内

外旋功能。④髋关节影像学评分,髋关节 X 线片正位、蛙式位用于评价 ARCO 分期和保髋疗效,后者参考北京中医药大学 X 线评价^[27](BUCMXE);髋关节磁共振用于评价髋关节骨髓水肿(BME)、关节积液程度,分别参考 BME^[28]、关节积液^[29]分级标准。⑤髋关节症状/证候评分,参照《股骨头坏死中医辨证标准(2019 年版)》^[24],及既往研究确定以下 20 项症状/证候(髋关节痛、刺痛、固定痛、压痛、活动时加重、疼痛夜间加重、膝关节痛、面色暗滞、口唇紫暗、跛行、关节屈伸不利、关节作冷、体倦乏力、下肢酸楚、下肢无力、晨僵、舌质暗、舌下络脉、脉涩、脉弦),及血瘀证总分(0 分:无症状;1 分:程度较轻,不影响日常生活;2 分:中等程度,偶尔影响日常生活;3 分:症状严重或持续,极度困扰日常生活)。⑥理化指标,包括血常规[血小板计数(PLT)]、凝血四项[血浆凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、血浆纤维蛋白原(FIB)、凝血酶时间(TT)]、血栓四项[血栓调节蛋白(TM)、血浆纤溶酶抗纤溶酶复合物(PIC)、凝血酶-抗凝血酶复合物(TAT)、TPA-PAI 复合物(t-PAI-C)]。

1.7 外周血转录组学检测 使用 PAXgene® Blood RNA Tube 保留患者治疗前后外周血各 2.5 mL,依次于室温(18~25℃)、冷藏(2~8℃)、冷冻(-20℃)分别静置 4 h 后,转移至-80℃超低温冰箱储存。经回顾性分析患者治疗前后各临床指标改善情况后,选取 3 例典型患者(选择标准:临床疗效评分总分下降超过 1.5 分;BUCMXE 骨坏死病变评分下降 1 分;症状/

证候评分总分下降超过 10 分或至少 8 项症状/证候评分下降超过 1 分;PT 延长且 TAT 水平下降),治疗前后的外周血样本委托北京致美伊诺生物科技有限公司进行 Illumina 测序,使用 R v4.3.3 对基因进行主成分分析(PCA)并绘图,利用公共生物学数据库提供的检索程序对差异表达基因(DEGs)进行分析,以 $\log_2(\text{fold change}) > 1.5$ 与校正后的 $P < 0.05$,作为显著差异表达的阈值,筛选出 DEGs。

1.8 生物信息学与核心基因-证型相关性分析 基于超几何分布算法对基因本体论(GO)功能、京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路进行富集分析,筛选显著性富集功能条目。将 DEGs 导入 STRING 数据库(<https://string-db.org/>),进行蛋白-蛋白互作(PPI)网络分析,其综合得分 > 0.7 的蛋白差异具有统计学意义,以 TSV 格式导入 Cytoscape 3.8.2 软件,计算节点介数中心性(betweenness centrality)、度值(degree)、紧密中心性(closeness centrality),并以 3 个网络拓扑特征参数的中位数,筛选 3 个拓扑特征值都大于中位数的节点作为核心节点,并进行可视化。

为探讨核心基因与中医证型、骨坏死病变、TAT 的关联,将核心基因与血瘀证评分、骨坏死病变评分和 TAT 进行相关性分析。鉴于数据的非正态分布及捕捉非线性关系,采用 Spearman 秩相关分析计算相关系数及显著性。

1.9 统计分析 用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析。符合正态分布的定量数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用配对样本 t 检验。定性数据用频次表示,采用卡方检验。等级资料用频次表示,采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者人口学特征 纳入患者 40 例,其中男性 18 例(45.00%),女性 22 例(55.00%)。平均年龄(44.50 ± 17.13)岁,年龄中位数 44 岁,最大 69 岁,最小 15 岁。平均 BMI(24.36 ± 4.20),BMI 中位数 23.88。入院时患者平均病程(21.81 ± 30.64)个月,中位数 10 个月。患者双髋关节受累 31 例,单髋关节受累 9 例(仅左髋 4 例、仅右髋 5 例),共 71 髋,其中 ARCO 分期为 I 期 0 髋,II 期 27 髋(38.03%),III A 期 24 髋(33.80%),III B 期 20 髋(28.17%),IV 期 0 髋。40 例患者原发病类型及占比见表 1,使用激素见表 2。

表 1 SONFH 经脉痹阻证患者原发病分布

Table 1 Distribution of primary disease of SONFH patients with meridian blockage syndrome

原发病类型	例数	占比/%
自身免疫系统	9	22.50
呼吸系统及感染类疾病	7	17.50
皮肤病	7	17.50
肾脏疾病及肾移植	5	12.50
神经系统疾病	4	10.00
血液病及肿瘤	2	5.00
眼科疾病	2	5.00
其他	4	10.00

注:纳入患者 40 例(表 2、3、5~7 同)。

表 2 SONFH 经脉痹阻证患者使用激素分布

Table 2 Distribution of glucocorticoids used by SONFH patients with meridian blockage syndrome

激素名称	例数	占比/%
甲泼尼龙	7	17.50
泼尼松	6	15.00
醋酸泼尼松	6	15.00
地塞米松	4	10.00
曲安奈德	2	5.00
倍他米松	2	5.00
强的松	1	2.50
不详	12	30.00

2.2 临床疗效评分 患者治疗后疼痛 VAS 评分、髋关节屈曲功能评分和临床疗效总分均有改善;行走距离评分治疗前、后均为 0 分,因为患者治疗期间进行保护性负重至少 6 个月,步行时需扶双拐,步行距离均按 0 分计,见表 3。

表 3 SONFH 经脉痹阻证患者临床疗效评分($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Clinical efficacy scores of SONFH patients with meridian blockage syndrome ($\bar{x} \pm s$)

时间	疼痛 VAS 评分	髋关节屈曲功能评分	行走距离评分	临床疗效总分
治疗前	6.55 ± 1.24	2.13 ± 1.88	0	3.91 ± 0.85
治疗 3 个月	3.35 ± 1.14	1.63 ± 1.43	0	2.16 ± 0.84
t	10.82	3.39	—	11.20
P	< 0.001	0.002	—	< 0.001

2.3 髋关节功能评分 患者治疗后 Harris 评分显著提升,髋关节内外旋功能得以保持甚至有小幅增加,见表 4。

2.4 髋关节影像学评分 患者治疗后股骨头形态评分和骨关节炎评分略升高,但差异无统计学意义,表明治疗后股骨头塌陷和髋关节炎没有显著进展;

表 4 SONFH 经脉痹阻证患者髋关节功能评分($\bar{x}\pm s$)Table 4 Function scores of hip joints of SONFH patients with meridian blockage syndrome ($\bar{x}\pm s$)

时间	Harris 评分/分	外旋功能/ $^{\circ}$	内旋功能/ $^{\circ}$
治疗前	66.40 $\pm$ 7.64	29.63 $\pm$ 10.65	14.62 $\pm$ 12.78
治疗 3 个月	82.55 $\pm$ 8.07	32.13 $\pm$ 9.93	16.63 $\pm$ 11.90
<i>t</i>	-12.43	-3.29	-3.40
<i>P</i>	<0.001	<0.002	<0.002

注:受累髋关节 71 髋。

表 5 SONFH 经脉痹阻证患者髋关节影像学评分($\bar{x}\pm s$)Table 5 Imaging scores of hip joints of SONFH patients with meridian blockage syndrome ($\bar{x}\pm s$)

时间	BUCMXE	股骨头形态评分	骨坏死病变评分	骨关节炎评分	BME	关节积液
治疗前	3.70 $\pm$ 1.60	0.97 $\pm$ 1.04	2.22 $\pm$ 0.74	0.51 $\pm$ 0.68	2.01 $\pm$ 0.87	1.99 $\pm$ 1.10
治疗 3 个月	3.42 $\pm$ 1.68	1.07 $\pm$ 1.06	1.80 $\pm$ 0.78	0.55 $\pm$ 0.70	1.78 $\pm$ 1.00	1.80 $\pm$ 1.18
<i>t</i>	1.74	-0.72	6.03	-1.76	1.45	0.97
<i>P</i>	0.087	0.477	<0.001	0.083	0.152	0.363

关节作冷、体倦乏力、下肢酸楚、下肢无力、晨僵、舌

骨坏死病变评分显著下降($P<0.001$),表明治疗后股骨头内硬化骨体积增加;BUCMXE 评分略降低,但差异无统计学意义,表明治疗后股骨头结构基本保持了稳定。BME 和关节积液虽有下降,但差异无统计学意义,见表 5。

2.5 髋关节症状/证候评分 患者治疗前后显著改善的症状/证候评分有髋关节痛、固定痛、压痛、活动时加重、膝关节痛、面色暗滞、口唇紫暗、关节屈伸不利、

质暗、舌下络脉、脉弦($P<0.05, P<0.001$),见表 6。

表 6 SONFH 经脉痹阻证患者髋关节症状/证候评分($\bar{x}\pm s$)Table 6 Symptom/syndrome scores of SONFH patients with meridian blockage syndrome ($\bar{x}\pm s$)

时间	髋关节痛	刺痛	固定痛	压痛	活动时加重	疼痛夜间加重	膝关节痛
治疗前	2.10 $\pm$ 0.71	0.18 $\pm$ 0.34	1.58 $\pm$ 0.71	1.20 $\pm$ 0.79	1.55 $\pm$ 0.88	0.55 $\pm$ 0.90	0.93 $\pm$ 0.97
治疗 3 个月	0.48 $\pm$ 0.55	0.13 $\pm$ 0.33	0.60 $\pm$ 0.50	1.03 $\pm$ 0.70	1.13 $\pm$ 0.72	0.40 $\pm$ 0.59	0.55 $\pm$ 0.60
<i>t</i>	10.23	1.43	8.41	2.88	4.52	1.96	4.39
<i>P</i>	<0.001	0.160	<0.001	0.006	<0.001	0.057	<0.001
时间	面色暗滞	口唇紫暗	跛行	关节屈伸不利	关节作冷	体倦乏力	下肢酸楚
治疗前	0.83 $\pm$ 0.71	0.68 $\pm$ 0.76	0.88 $\pm$ 0.79	0.85 $\pm$ 0.80	0.63 $\pm$ 0.95	1.00 $\pm$ 0.88	0.58 $\pm$ 0.68
治疗 3 个月	0.68 $\pm$ 0.53	0.45 $\pm$ 0.55	0.85 $\pm$ 0.74	0.75 $\pm$ 0.67	0.30 $\pm$ 0.52	0.70 $\pm$ 0.65	0.23 $\pm$ 0.48
<i>t</i>	2.62	3.37	0.37	2.08	3.59	3.67	4.58
<i>P</i>	0.012	0.002	0.711	0.044	<0.001	<0.001	<0.001
时间	下肢无力	晨僵	舌质暗	舌下络脉	脉涩	脉弦	血瘀证总分
治疗前	1.15 $\pm$ 0.77	0.33 $\pm$ 0.57	1.08 $\pm$ 0.76	0.40 $\pm$ 0.63	0.25 $\pm$ 0.44	0.63 $\pm$ 0.70	17.33 $\pm$ 5.15
治疗 3 个月	0.65 $\pm$ 0.66	0.13 $\pm$ 0.33	0.90 $\pm$ 0.67	0.20 $\pm$ 0.41	0.18 $\pm$ 0.38	0.45 $\pm$ 0.50	10.75 $\pm$ 3.84
<i>t</i>	6.25	3.12	2.88	3.12	1.78	2.88	17.76
<i>P</i>	<0.001	0.003	0.006	0.003	0.083	0.006	<0.001

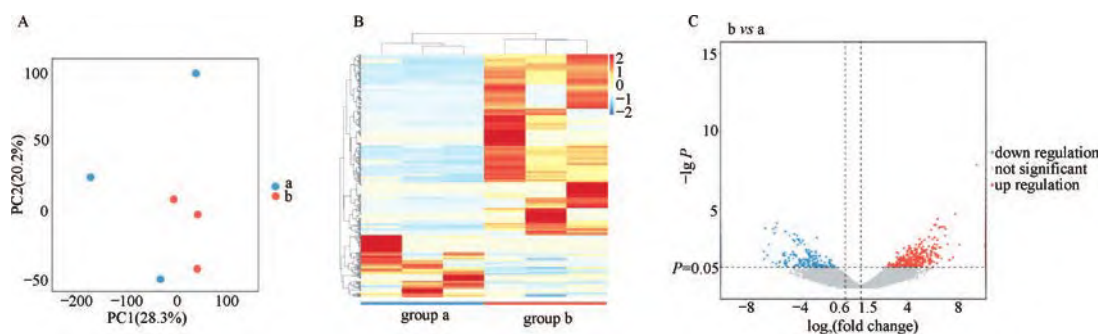
2.6 理化指标 凝血四项中,PT、APTT 延长($P=0.003, P=0.010$),表明治疗后凝血耗时增加。血栓四项中,TAT 水平明显下降($P=0.002$),表明治疗起到了一定的抗凝作用,其余指标变化差异无统计学意义,见表 7。

2.7 患者外周血的转录组学分析 治疗前后样本表达谱数据差异显著,PCA 见图 2A。将患者治疗前后 DEGs 进行聚类分析,其聚类热图见图 2B。治疗前后 368 个 DEGs 中,274 个上调,94 个下调,火山图见图 2C。

2.8 患者外周血 DEGs 的 GO 功能与 KEGG 分析 GO 功能富集分析显示,DEGs 参与的生物过程主要有对肿瘤坏死因子产生的正调控、整合素介导的信号通路、中性粒细胞趋化性、调节肿瘤坏死因子的产生等,细胞组分主要有三级颗粒、亚甲蓝颗粒、分泌颗粒膜、空泡腔等,分子功能主要有生长因子结合、整合素结合、细胞因子结合、细胞外基质结构成分等(见中国知网本文增强出版附加材料)。KEGG 通路富集分析显示,DEGs 主要参与了造血细胞谱系、破骨细胞分化、补体和凝血级联反应、血小板激活等信

表 7 SONFH 经脉痹阻证患者的理化指标($\bar{x}\pm s$)Table 7 Physiochemical indices of SONFH patients with meridian blockage syndrome ($\bar{x}\pm s$)

时间	血常规	凝血四项				血栓四项			
	PLT/ $\times 10^9/L$	PT/s	APTT/s	FIB/ $g\cdot L^{-1}$	TT/s	TM/TU $\cdot mL^{-1}$	PIC/ $\mu g\cdot mL^{-1}$	TAT/ $ng\cdot mL^{-1}$	t-PAI-C/ $ng\cdot mL^{-1}$
治疗前	239.35 $\pm$ 57.07	11.46 $\pm$ 0.74	26.90 $\pm$ 1.74	2.98 $\pm$ 0.99	17.08 $\pm$ 0.81	8.29 $\pm$ 1.86	0.57 $\pm$ 0.29	5.34 $\pm$ 5.74	7.66 $\pm$ 3.66
治疗 3 个月	230.73 $\pm$ 59.53	11.71 $\pm$ 0.92	27.64 $\pm$ 2.60	2.83 $\pm$ 0.82	16.78 $\pm$ 0.76	8.06 $\pm$ 2.26	0.53 $\pm$ 0.25	2.56 $\pm$ 1.04	7.28 $\pm$ 2.99
<i>t</i>	1.58	-3.14	-2.70	1.23	1.92	0.47	0.78	3.29	0.56
<i>P</i>	0.122	0.003	0.010	0.228	0.063	0.640	0.439	0.002	0.581



样本来源于 3 例疗效显著患者(图 3 同)。A. PCA; B. DEGs 聚类热图; C. 火山图; a. 治疗前; b. 治疗 3 个月。

图 2 PCA 与差异表达基因的聚类分析

Fig. 2 PCA and cluster analysis of differential expression genes

号通路(见中国知网本文增强出版附加材料)。

2.9 PPI 网络与核心基因筛选 介数中心性中位数为 0.002, 紧密中心性中位数为 0.327, 度值中位数为 4, degree 排名前 15 的基因即为活血通痹方作用的核心基因, 见表 8。

2.10 核心基因与改善显著指标的相关性分析 对 15 个核心基因与血瘀证评分、骨坏死病变评分和 TAT 进行 Spearman 相关性分析显示, UBA52 ($r=0.83, P<0.05$)、RACK1 ($r=0.88, P<0.05$)、RPL19 ($r=-0.87, P<0.05$) 与血瘀证评分具有显著相关性; CD74 与骨坏死病变评分 ($r=0.95, P<0.05$) 和 TAT ($r=0.88, P<0.05$) 具有显著相关性, 见图 3。

3 讨论

SONFH 在各种病因导致的 ONFH 中占比较大^[42], 并具有隐匿性强、进展迅速、塌陷率高等临床特征^[43]。因此, 选择 SONFH 患者作为临床观察的研究对象, 并进行转录组测序, 可有效排除病因异质性干扰, 确保研究结果的可靠性。

陈卫衡教授取王清任补阳还五汤“补气活血”创制的活血通痹方, 调整了药物剂量, 并结合 ONFH 疾病特点增加了温补药鹿角, 通经药桂枝、独活, 引经药牛膝, 全方共奏补气活血、疏通通痹之功。团队前期开展的活血通痹方及其前方(活骨 II 号、活血

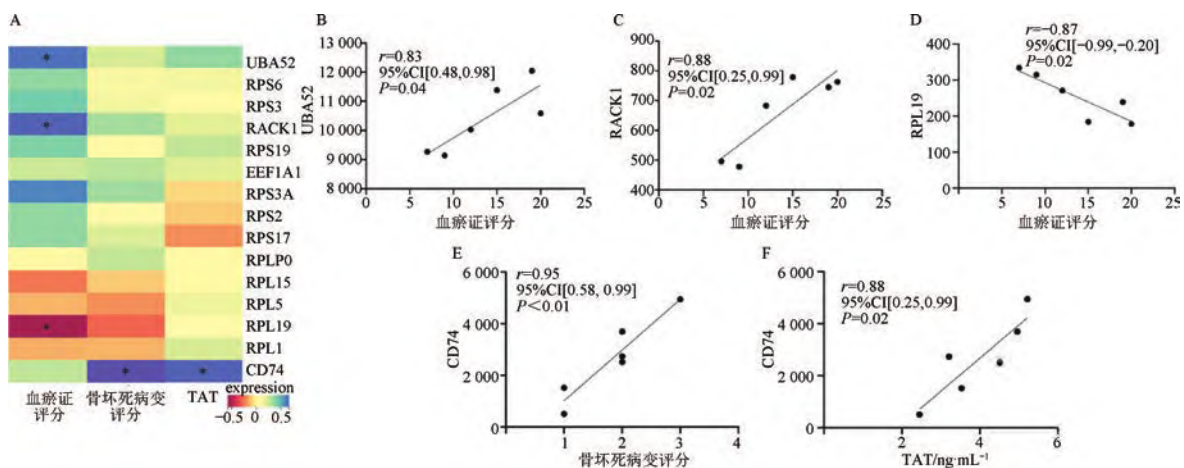
通络方、活骨 II 方)的基础研究显示, 该方能有效改善 ONFH 兔模型血液流变异常与股骨头髓腔内血管面积, 提高股骨头 VEGF 表达的作用, 促进骨髓干细胞(BMSCs)归巢^[19], 上调血清骨钙素(BGP)、骨形态发生蛋白-2(BMP-2)含量和股骨头内 BMP-2 mRNA 表达^[20], 引经药牛膝能促进上述作用。

本研究为系统阐释活血通痹方治疗 SONFH 经脉痹阻证的功效内涵, 观察指标包含人口学特征、临床疗效、关节功能、影像学评分、症状/证候、理化指标 6 个方面。人口学特征方面, SONFH 经脉痹阻证患者发病年龄符合 ONFH 好发于青壮年的特点, 对此类患者若直接行全髋关节转换术(THA), 常因活动量大使假体磨损更多^[44], 二次翻修的风险^[45]较 60 岁以上的老年患者更高, 而中西医结合保髋治疗则可延迟甚至避免患者进行 THA, 减轻其经济和心理负担。临床疗效方面, 患者治疗前后临床疗效评分有显著改善, 除行走距离评分因治疗期间应遵医嘱扶拐至少半年, 故治疗前后均为 0 分外, 髋关节疼痛 VAS 评分和屈曲功能评分都有明显改善。关节功能方面, 评价了 Harris 评分, 髋关节内外旋功能, 良好的内外旋功能对日常活动的贡献度仅次于屈曲功能, 治疗后关节功能有显著提升, 患者能做蹲起、穿鞋袜等日常活动, 极大提高了生活质量。影像学评

表 8 SONFH 经脉痹阻证核心基因

Table 8 Core genes of SONFH with meridian blockage syndrome

核心基因	degree	功能	与骨病或凝血的相关性
UBA52	40	参与蛋白泛素化修饰,是线粒体自噬的关键基因	通过调节核糖体活性参与老年骨质疏松症 ^[30] 和腰椎间盘突出症,与骨折部位组织外泌体密切相关 ^[31]
RPS6	39	参与蛋白质合成的初始阶段,是 40S 核糖体小亚基的组成部分	参与肌原纤维蛋白合成,促进骨骼肌生长,通过细胞自噬参与类固醇诱导的 ONFH ^[32] ;RPS6 启动子稳定表达凝血因子 ^[33]
RPS3	37	是一种 DNA 修复核酸内切酶,参与细胞凋亡	通过调节细胞生长和凋亡,参与骨肿瘤的增殖、迁移和侵袭
RACK1	36	参与各种信号分子募集、组装和/或调节的支架蛋白	促进骨肿瘤细胞的增殖、黏附,并促进骨骼肌的生长和再生 ^[34]
RPS19	35	其突变会导致 Diamond-Blackfan 贫血	通过浆细胞浸润,调节免疫微环境,参与 ONFH ^[35]
EEF1A1	35	编码的蛋白负责将氨酰基 tRNA 酶促递送至核糖体	是肌细胞生成的关键调节因子,膝关节关节炎发病的枢纽基因
RPS3A	34	核糖体小亚基的组成部分,与新生的前 rRNA 结合,协同工作以产生 RNA 折叠、修饰、重排和切割	强直性脊柱炎中髓关节病的枢纽蛋白;通过核糖体通路影响系统性血管炎的发生 ^[36]
RPS2	34	核糖体的组成部分,该蛋白质的突变会影响翻译保真度的控制	骨肉瘤的枢纽基因
RPS17	33	核糖体小亚基的组成部分,与新生的前 rRNA 结合,并协同工作以产生 RNA 折叠、修饰、重排和切割	强直性脊柱炎、静脉血栓栓塞的枢纽基因 ^[37] ,通过雄激素和雌激素受体元件调控类风湿关节炎的发生
RPLP0	33	编码核糖体大亚基侧链的组成部分,起支撑和稳定核糖体作用	参与成骨分化 ^[38] 和骨质细胞矿化 ^[39] ,膝关节关节炎发病的枢纽基因
RPL15	32	核糖体大亚基的组成部分,稳定核糖体结构并提高翻译效率	通过增加氨基酸分解代谢和相互转化,调节类风湿关节炎中骨骼肌基因的基线表达
RPL5	32	核糖体大亚基的重要组成部分,是其形成和 rRNA 成熟所必需的	在多发骨髓瘤患者中显著下调,其变异与血栓形成相关
RPL19	32	核糖体大亚基的组成部分,调控 mRNA 翻译、细胞周期与生长	在骨关节炎中表达显著升高,枢纽基因,参与破骨细胞吸收活性、迁移、黏附和细胞周期进展 ^[40]
RPL11	31	是核糖体大亚基的重要组成部分,是其形成和 rRNA 成熟所必需	在骨关节炎中表达水平显著升高,枢纽基因
CD74	31	在 MHC II 类抗原加工中发挥关键作用,引导复合物从内质网转运到内体/溶酶体系统;作为细胞因子 MIF 的细胞表面受体	在多发骨髓瘤高侵袭性细胞亚群中极高表达,其抗体是中轴型脊柱关节炎的诊断生物标志物 ^[41]



A. 核心基因与血瘀证评分、骨坏死病变评分、TAT 的 Spearman 相关性热图 (蓝色表示正相关,红色表示负相关, * $P < 0.05$); B. UBA52 与血瘀证评分相关性散点图; C. RACK1 与血瘀证评分相关性散点图; D. RPL19 与血瘀证评分相关性散点图; E. CD74 与骨坏死病变评分相关性散点图; F. CD74 与 TAT 水平相关性散点图。

图 3 活血通痹方作用核心基因与改善显著指标的相关性分析

Fig. 3 Correlation analysis between core genes of Huoxue Tongbi Formula and significant improvement indicators

分方面, BUCMXE 评分、BME 与关节积液在治疗后虽呈下降趋势, 但差异无统计学意义, 表明 3 个月的

治疗期内影像学结构改变相对稳定。值得注意的是, 骨坏死病变评分得到显著改善 ($P < 0.001$), 可能

反映了坏死区边缘的反应带变化、囊变区域的修复迹象或骨密度的改善等积极征象。BME 和关节积液的改善不显著,可能与观察周期较短有关,因为炎症/水肿的吸收往往需要更长时间,可能提示活血通痹方对骨修复/凝血状态的调节作用先于或强于其对局部炎症/渗出的直接抑制作用。尽管如此,影像学的总体稳定,尤其在 SONFH 经脉痹阻证患者中,本身意味着治疗成功延缓了疾病的影像学进展,这与患者疼痛显著缓解、功能明显改善的临床结果相契合。理化指标方面,既往研究显示 ONFH 经脉痹阻证患者 PLT^[46]较其他证型高,本研究凝血四项显示,PT、APTT 显著延长($P<0.01$),血栓四项中反映凝血酶生成的敏感标志物 TAT 水平显著降低($P<0.01$),提示活血通痹方有效改善了 SONFH 患者的高凝状态。这与其在转录组层面调控补体和凝血级联反应、血小板激活通路的发现高度一致。值得注意的是,核心基因 RACK1 与血瘀证评分呈强正相关($r=0.63$)。RACK1 作为重要的信号转导支架蛋白,参与调控包括血小板活化在内的多种细胞过程^[47]。其表达变化提示活血通痹方可能通过干扰 RACK1 介导的信号通路,抑制血小板过度活化和凝血级联反应,从而改善微循环障碍,为其活血通痹功效提供了分子依据。此外,CD74 与骨坏死病变评分和 TAT 均呈正相关,提示炎症(CD74 作为 MIF 受体参与炎症反应^[48])与凝血活化(TAT)在骨破坏进程中存在紧密联系,活血通痹方可能通过调节 CD74/MIF 轴,干预炎症-凝血-骨破坏网络。

本研究也存在一定局限性,①观察周期为3个月,对 SONFH 这类慢性骨病而言相对较短,延长随访时间有助于更全面地评估活血通痹方的长期保髋疗效和影像学演变;②作为一项临床回顾性研究,其设计本身存在固有的偏倚风险,尽管通过严格的纳入与排除标准尽可能控制了混杂因素,但仍需谨慎解读结果;③转录组学分析仅纳入3例临床疗效显著改善患者,样本量有限且可能存在选择偏倚,发现的 DEGs 及核心基因可能主要反映“最佳反应者”的分子特征,其普适性需在更大样本量、不同疗效反应患者的研究中进一步验证;④筛选出的核心基因和信号通路(如 RACK1、核糖体蛋白基因、凝血/破骨通路)与活血通痹方疗效及血瘀证评分的关联性,主要基于生物信息学和相关性分析,尚缺乏直接的体内外功能实验验证其因果作用机制。未来研究应

在扩大样本量、延长观察时间的基础上,进一步开展功能实验以明确其机制。

综上,活血通痹方能显著改善 SONFH 经脉痹阻证患者的临床疗效评分(尤其是疼痛 VAS 评分和关节功能)、髋关节活动度及凝血功能(显著降低 TAT),有助于维持影像学稳定。其作用机制可能与调控造血细胞谱系、抑制破骨细胞分化、纠正补体-凝血-血小板激活网络异常,改善骨代谢和微循环状态有关。转录组学筛选出的核心基因(如 UBA52、RACK1、CD74)为理解 SONFH 经脉痹阻证“血瘀”表型的分子内涵,及活血通痹方的功效机制提供了重要线索,值得深入研究。

[参考文献]

- [1] YOON B H, MONT M A, KOO K H, et al. The 2019 revised version of Association Research Circulation Osseous staging system of osteonecrosis of the femoral head[J]. J Arthroplasty, 2020,35(4):933.
- [2] ZHAO D, ZHANG F, WANG B, et al. Guidelines for clinical diagnosis and treatment of osteonecrosis of the femoral head in adults (2019 version)[J]. J Orthop Translat, 2020,21:100.
- [3] CHANDLER F A. Coronary disease of the hip[J]. J Int Coll Surg, 1948,11(1):34.
- [4] 何伟. 科学看待中医药治疗非创伤性股骨头坏死[J]. 中华关节外科杂志(电子版),2013,7(3):284.
- [5] 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.
- [6] 汪小敏,曹林忠,宋敏,等. 基于三大组学探讨激素性股骨头坏死的“虚、痰、瘀”理论[C]. 呼和浩特:第二十四届中国中西医结合骨伤科学学术年会,2017.
- [7] 赫龙,高爽,李志刚,等. 基于三大组学探讨从“痰、虚、瘀”论治 SANFH 的可行性[J]. 时珍国医国药,2022,33(8):1947.
- [8] 郭桂梅,欧阳文斯,赵长伟,等. 赵文海教授从“虚、痰、瘀”论治股骨头坏死的经验[J]. 中国中医骨伤科杂志,2024,32(11):82.
- [9] 苟开来,李明. 中医药治疗股骨头坏死研究[J]. 医学信息,2020,33(3):59.
- [10] 陈镇秋,何伟,魏秋实. 股骨头坏死中医证型与血液学指标的关系研究[J]. 中医正骨,2013,25(3):35.
- [11] 周明旺,陈彦同,李盛华,等. 从“瘀”探析非创伤性股骨头坏死机理[J]. 中国中医药信息杂志,2019,26(8):110.
- [12] 乌日莎娜,沈莹珊,袁颖嘉,等. 基于“瘀去、新生、骨合”理论从细胞层面探讨祛瘀、活血及补肾中药治疗股骨头坏死的作用机制[J]. 中医正骨,2022,34(4):61.
- [13] 沈莹珊,何晓铭,赵雄,等. 关于“血瘀证是股骨头坏死主要证候”的调查研究[J]. 中医正骨,2022,34(4):25.
- [14] 陈卫衡,刘道兵,张强,等. SARS 后股骨头坏死的证候特点及治疗方案优化研究(上)[J]. 中国中医药现代远程教育,2006,4(10):55.
- [15] 陈卫衡,刘道兵,张强,等. SARS 后股骨头坏死的证候特点及治疗方案优化研究(下)[J]. 中国中医药现代远程教育,

- 2006,4(11):54.
- [16] 邹海鹏,陈卫衡.中晚期股骨头坏死中医综合治疗的临床研究[J].北京中医药,2010,29(1):43.
- [17] 王荣田,殷小杰,林娜,等.活骨Ⅱ方对股骨头坏死模型兔血液流变学的影响[J].中国中医药信息杂志,2012,19(1):50.
- [18] 孔祥英,田能,王荣田,等.活骨Ⅱ方加不同引经药对股骨头坏死兔股骨头内血管内皮生长因子表达的影响[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(8):237.
- [19] 田能,孔祥英,王荣田,等.不同引经药对股骨头坏死模型兔骨髓干细胞归巢的影响[J].中国中药杂志,2012,37(11):1624.
- [20] 王荣田,孔祥英,田能,等.活血通络方加不同引经药对股骨头坏死兔成骨相关因子的影响[J].中国骨伤,2013,26(7):591.
- [21] 李泰贤,张彦琼,黄泽青,等.从分子网络解析非创伤性股骨头坏死不同中医证候的生物学基础及其对证方药的作用机制[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(16):192.
- [22] 姜云耀,孙明谦,马博,等.组学技术在现代中药药理研究中的应用与思考[J].世界科学技术(中医药现代化),2018,20(8):1287.
- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] 陈卫衡,何伟,赵德伟,等.股骨头坏死中医疗效评价标准(2019年版)[J].中医正骨,2019,31(6):3.
- [26] HARRIS W H. Traumatic arthritis of the hip after dislocation and acetabular fractures; treatment by mold arthroplasty. An end-result study using a new method of result evaluation[J]. J Bone Joint Surg Am, 1969,51(4):737.
- [27] HUANG Z, LI T, LIN N, et al. Evaluation of radiographic outcomes after core decompression for osteonecrosis of the femoral head: the Beijing University of Chinese Medicine X-ray evaluation method[J]. J Bone Joint Surg Am, 2022,104(Suppl 2):25.
- [28] 詹维强,尹宗生,陆鸣,等.非创伤性股骨头坏死骨髓水肿与ARCO分期及疼痛的相关性[J].中国组织工程研究,2015,19(46):7529.
- [29] 唐昊,常俊,陆鸣,等.非创伤性股骨头坏死髋关节积液与坏死分期及髋关节功能的相关性分析[J].临床骨科杂志,2017,20(2):169.
- [30] 王超,姜旭,李泉,等.基于生物信息学分析识别老年骨质疏松症核心致病基因及通路[J].中华预防医学杂志,2023,57(7):1040.
- [31] WANG D, DIAO S, ZHOU X, et al. A new method regulates bone fracture tissue exosome lncRNA-mRNA to promote mesenchymal stem cell proliferation and migration[J]. Injury, 2024,55(2):111210.
- [32] WANG Y, ZHANG Y, LU H, et al. Integrative analysis of cellular autophagy-related genes in steroid-induced osteonecrosis of the femoral head[J]. Am J Transl Res, 2023,15(9):5850.
- [33] 张文慧,王文天,池颖,等.利用RPS6启动子实现凝血因子的稳定表达[J].中国实验血液学杂志,2023,31(2):489.
- [34] CATALANI E, ZECCHINI S, GIOVARELLI M, et al. RACK1 is evolutionary conserved in satellite stem cell activation and adult skeletal muscle regeneration[J]. Cell Death Discov, 2022,8(1):459.
- [35] LI J, DONG J, LI M, et al. Potential mechanisms for predicting comorbidity between multiple myeloma and femoral head necrosis based on multiple bioinformatics[J]. Comput Biol Chem, 2024,113:108220.
- [36] GAN S J, YE B, QIAN S X, et al. Immune- and ribosome-related genes were associated with systemic vasculitis[J]. Scand J Immunol, 2015,81(2):96.
- [37] ZHANG L, QIN J, LI P. Bioinformatics analysis of potential common pathogenic mechanisms for COVID-19 and venous thromboembolism[J]. Cytokine, 2024,181:156682.
- [38] FERREIRA D B, GASPARONI L M, BRONZERI C F, et al. RPLP0/TBP are the most stable reference genes for human dental pulp stem cells under osteogenic differentiation[J]. World J Stem Cells, 2024,16(6):656.
- [39] SUN Q, LI B, LI Y, et al. Birc5 and Nude are screened as candidate reference genes for RT-qPCR studies in mouse cementoblast mineralization using time-series RNA-seq data[J]. Eur J Orthod, 2024,46(4):cjae035.
- [40] ZHANG C, HUANG X, QIN B, et al. Mechanistic insights into Kaempferol's therapeutic effects on postmenopausal osteoporosis: a proteomic and experimental validation in ovariectomized rats[J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2025, doi: 10.2174/0113862073354862241205062019.
- [41] STEIMER A, GOTSCHI A, WITTE T, et al. Anti-CD74 autoantibodies in axial spondyloarthritis as biomarkers for activity and severity of disease but not for tumour necrosis factor inhibitor retention; data from the Swiss Clinical Quality Management in rheumatic diseases cohort[J]. Clin Rheumatol, 2025,44(4):1589.
- [42] 严其凯,张文贤,李佳霖,等.激素性股骨头坏死发病机制研究进展[J].西部中医药,2024,37(10):71.
- [43] 王晓萍,张亚衡,周明旺.激素性股骨头坏死发病机制研究进展[J].陕西医学杂志,2025,54(3):429.
- [44] DOREY F J. Survivorship analysis of surgical treatment of the hip in young patients[J]. Clin Orthop Relat Res, 2004,418:23.
- [45] RIVIÈRE C, VENDITTOLI P A. Personalized hip and knee joint replacement[M]. Cham (CH): Springer, 2020.
- [46] 陈卫衡,刘道兵,孙凯,等.股骨头坏死中医证型与相关理化指标关系的研究[J].中国骨伤,2005,18(9):513.
- [47] LIU X, ZHU M, YANG X, et al. Inhibition of RACK1 ameliorates choroidal neovascularization formation *in vitro* and *in vivo*[J]. Exp Mol Pathol, 2016,100(3):451.
- [48] SU H, NA N, ZHANG X, et al. The biological function and significance of CD74 in immune diseases[J]. Inflamm Res, 2017,66(3):209.

[责任编辑 张燕]