

· 综述 ·

TLR4/NF- κ B 信号通路在激素性股骨头坏死的作用[△]

徐玉娟^{1,3}, 马良辰¹, 田富宝¹, 朱宁^{2*}

(1. 宁夏医科大学, 宁夏银川 750004; 2. 宁夏医科大学总医院康复医学科, 宁夏银川 750004;
3. 宁夏回族自治区宁东医院, 宁夏银川 750400)

摘要: 激素性股骨头坏死 (steroid-induced osteonecrosis of the femoral head, SONFH) 是由于糖皮质激素的大量使用最终造成股骨头坏死的一种代谢性疾病, 而 SONFH 的发病机制迄今仍未完全明确, 存在各种假说。研究表明, 巨噬细胞参与的炎症反应可能是激素性股骨头坏死发生发展的重要促发因素之一。Toll 样受体 4 (toll like receptor 4, TLR4) /核转录因子- κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 炎症信号通路能被短期内过量或长期使用的糖皮质激素激活, 致 NF- κ B 活化, 使其原有结构发生改变, 继而转入细胞核启动基因表达释放出大量炎性介质, 如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1beta, IL-1 β)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 等, 使破骨细胞分化增强, 骨吸收增加, 同时抑制成骨细胞分化和骨形成, 诱发其凋亡, 对骨的结构造成影响, 破坏骨稳态, 最终引发股骨头塌陷、坏死。本文对 TLR4/NF- κ B 信号通路参与 SONFH 进展的可能作用机制进行综述, 为 SONFH 的预防和治疗提供新思路。

关键词: TLR4 受体, 股骨头坏死, 糖皮质激素, 综述

中图分类号: R318 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2024) 10-0895-06

Role of TLR4 / NF- κ B signaling pathway in steroid-induced osteonecrosis of the femoral head // XU Yu-juan^{1,3}, MA Liang-chen¹, TIAN Fu-bao¹, ZHU Ning². 1. Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 2. Department of Rehabilitation Medicine, General Hospital, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 3. Ningdong Hospital, Ningxia Hui Autonomous Region, Yinchuan, 750400, China

Abstract: Steroid-induced osteonecrosis of the femoral head (SONFH) is a metabolic disease caused by the extensive use of glucocorticoid. The pathogenesis of SONFH is still not completely clear, yet there are various hypotheses. Studies have shown that the inflammatory reaction of macrophages may be one of the important factors to impel the development of SONFH. The TLR4/NF- κ B inflammatory signaling pathway can be activated by excessive glucocorticoid in the short-term or long term, resulting in the activation of NF- κ B, which changes the original structural state of NF- κ B, and then transmits to the nuclear promoter gene expression to release a large number of inflammatory mediators, such as TNF- α , IL-1 β , IL-6, etc. They inhibits osteoblast differentiation and bone formation, induces osteoblast apoptosis, at the same time, enhances osteoclast differentiation, increases bone resorption and destroys bone homeostasis, eventually leading to collapse and necrosis of femoral head. This article reviews the possible mechanism of TLR4/NF- κ B signaling pathway in the progression of SONFH, providing a reference for the prevention and treatment of SONFH.

Key words: Toll-like receptor 4, femoral head necrosis, glucocorticoid, review

激素性股骨头坏死 (steroid-induced osteonecrosis of the femoral head, SONFH) 是一种严重的代谢性疾病, 造成骨内循环障碍、骨代谢失衡、破骨细胞活性增强、成骨细胞凋亡增多, 破坏了股骨头局部血运, 引起缺血、坏死, 最终造成股骨头的塌陷和骨折^[1]。研究表明, 我国非创伤性股骨头坏死的发生率高居世界前列, 全球多达 2 000 万人, 我国高达 800

多万人^[2]。SONFH 是非创伤性股骨头坏死中的常见类型, 占非创伤性股骨头坏死发病率的 51%, 并逐年增加。SONFH 的发病是多种机制、多因素共同作用的结果, 但其确切的发病机制尚未十分清楚。越来越多的研究证明巨噬细胞参与的炎症反应可能是 SONFH 发生发展的重要促发因素之一^[3, 4]。高剂量糖皮质激素可以激活经典 TLR4/NF- κ B 炎症信号转导

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2024.10.06

[△]基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 81760904); 宁夏医科大学总医院“国家自然科学基金项目孵育计划”

作者简介: 徐玉娟, 副主任医师, 研究方向: 肌肉骨骼疾患康复研究, (电子信箱) 2498979393@qq.com

* 通信作者: 朱宁, (电子信箱) 13995310532@163.com

通路过表达,使 NF- κ B 活化并易位至细胞核驱动靶基因的转录,释放大量炎症因子,如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等,促进破骨细胞成熟,并抑制成骨细胞分化,造成骨代谢失衡,骨稳态紊乱,最终导致 SONFH。

1 TLR4/NF- κ B 信号通路生物学概述

固有免疫是人体生来就有的,初步进行杀菌,构成人体的第一道免疫防线,它通过模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)(又称固有免疫受体),识别出特定类型病原体,相对保守的病原体相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs)进行免疫应答。Toll 样受体(toll-like receptors, TLRs)属于跨膜 PRRs 家族,能够识别 PAMPs、内源性危险信号相关分子模式(damage associated molecular patterns, DAMPs)等,从而激活机体的固有免疫。作为最早被发现的一类 PRRs,它所介导的炎症反应,在人体识别病原微生物和危险信号产生免疫应答中发挥重要作用,刺激免疫系统保护机体^[5]。然而,在一些情况下,持续的炎症反应可能对机体造成损伤。

TLR4 是 TLRs 家族的重要成员,是首个被发现的 TLRs 相关蛋白质,广泛存在于免疫细胞表面,同时在非免疫细胞破骨细胞、成骨细胞表面也表达,也是介导革兰氏阳性细菌内毒素/脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)主要的识别受体^[6]。TLR4 具有胞外重复亮氨酸序列(leucine-rich repeat, LRR)、跨膜域以及胞内保守的 Toll-白细胞介素 1 受体(toll-interleukin-1 receptor, TIR)序列。当 TLR4 与相应的配体结合后,信息被传递给 TIR 序列,使得 TIR 发生二聚化,并与髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)进行结合,形成 TIR-MyD88 活性复合体,MyD88 激活后募集白细胞介素 1 受体相关激酶 1/4(interleukin-1 receptor-associated kinase 1/4, IRAK1/IRAK4),同时可募集肿瘤坏死因子受体相关因子 6(tumor necrosis factor-associated factor 6, TRAF6),激活 NF- κ B 诱导激酶(inhibitor of nuclear factor- κ B kinase, IKK β),最终在 IKK β 的作用下 NF- κ B 三聚体中的抑制成分 I κ B α (inhibitor- κ binding protein α)特定部位丝氨酸残基的两个磷酸化位点 32、36 被磷酸化,之后 I κ B α 被泛素化并降解,致 NF- κ B 释放并活化,从细胞质移位至细胞核,导致多个炎症因子的表达,最终形成复杂且持续

的级联炎症反应,调控成骨细胞和破骨细胞,在维持骨稳态中发挥着重要的作用^[7]。

而 NF- κ B 是炎症反应中主要的保守的转录因子,拥有一种保守的 N-端同源结构域(rel homology domain, RHD),对它的二聚化、核定位以及与 NF- κ B 抑制剂的相互作用都十分重要^[8]。它有两种不同的结构形式:一种是具有生物学功能的二聚体形式,通常由 p65/p50 两个亚基构成,位于细胞核内;另一种则是没有生物学功能的三聚体形式,位于细胞质中,由 p65/p50/I κ B α 构成。在静息状态下, NF- κ B 与抑制蛋白 I κ B α 结合,并以三聚体的形式存在于细胞质中,阻止 NF- κ B 进入细胞核,阻断转录从而抑制了炎症因子的释放。

2 TLR4/NF- κ B 信号通路与 SONFH 的关系

糖皮质激素(glucocorticoid, GC)通过经典的基因组机制和快速的非基因组机制,作用于多种免疫细胞、组织,发挥抗炎和免疫抑制作用,在治疗炎症和免疫系统疾病方面得到了广泛的应用。然而近年研究发现,GC 还能发挥促炎作用。在某些情况下,高剂量使用糖皮质激素会引起 Myd88 依赖的 TLR4/NF- κ B 炎症信号转录通路异常表达,引发 NF- κ B 入核,释放出大量的炎症因子,引起炎症反应,从而扰乱骨骼代谢平衡,阻碍血液循环,最终引发 SONFH^[9]。而 GC 对 TLR4/NF- κ B 通路的激活可能源于热休克蛋白 70(heat shock proteins 70, HSP70)。有学者证实,TLR4 及其辅因子白细胞分化抗原 14(cluster of differentiation antigen 14, CD14)是 HSP70 的受体,参与疾病的发生发展过程^[10]。另外,LPS 的脂质 A 能结合 LPS 结合蛋白(LPS binding protein, LBP)及 CD14 形成 LPS-LBP-CD14 三联复合物,此三联复合物的相互作用,可以激活 TLR4 信号通路,使 NF- κ B 达到持续活化状态,并移位到细胞核,从而促进炎症因子释放,直接抑制成骨前体细胞的生成,延长破骨细胞的生存周期;同时间接增加凝血,影响血管再生,使局部血管收缩,最终减少股骨头血供,导致骨坏死发生^[11、12]。田雷等^[13]在 SONFH 模型中发现,TLR4、MyD88 和 NF- κ B 的 mRNA 和蛋白的表达都有明显升高,主要在于 TLR4 信号通道的高水平激活。Adapala 等^[14]的研究还证实,在 Legg-Calvé-Perthes 病的仔猪股骨头坏死(osteonecrosis of the femoral head, ONFH)模型中,TLR4 基因的表达量大幅提升,相比之下,TLR2 和 TLR9 的表达量并未出现

显著的改变。所以，经典的 TLR4/NF- κ B 炎症信号通路在 SONFH 中扮演着重要的作用。

2.1 TLR4/NF- κ B 通路调控成骨细胞

大量使用糖皮质激素可以抑制成骨细胞合成和分泌骨钙素 (osteocalcin, OCN)，骨再生减弱，进而骨小梁数量及厚度降低，最终导致股骨头塌陷和骨坏死。而成骨细胞在保证骨骼系统稳态中扮演着至关重要的角色，它能分泌和合成构成骨骼的基本物质，主要通过使矿物质沉积而让骨骼重新建立，实现骨骼的正常代谢。研究表明，TLR4/NF- κ B 信号通路对成骨细胞可能有一定的抑制作用。Pei 等^[15]在 SONFH 小鼠实验中发现，TLR4/NF- κ B 被过度激活时，会对 dickkopf 相关蛋白 1 (DKK1) 以及糖原合成激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK3 β) 的活性产生影响，抑制糖蛋白/ β -链蛋白 (Wnt/ β -catenin) 信号通路，进而抑制成骨的分化。同时研究发现，LPS 通过 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路，抑制骨形态发生蛋白-2 (bone morphogenetic protein2, BMP-2) 诱导的成骨分化。通过用特异性抑制剂 Bay-11-7082 阻断 NF- κ B 信号传导，可以显著逆转 TLR4 对 BMP-2 诱导成骨分化的抑制作用^[16]。

2.2 TLR4/NF- κ B 通路调控破骨细胞

SONFH 病程中由于破骨细胞的活性和数量显著增加，对骨小梁的吸收速率大大提高，从而使骨小梁变得细小稀疏，骨微结构受到严重损害，最终引起股骨头坏死和塌陷。破骨细胞是体内唯一能够吸收骨质的细胞，在骨生长、修复中发挥重要的作用。而抗酒石酸酸性磷酸酶 (tartrate-resistant acid phosphatase, TRAP) 能很好地反应骨吸收及破骨细胞活性状态。单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein1, MCP-1) 可以促进单核/巨噬细胞系分化，产生大量的破骨细胞。Tian 等^[17]发现，甲泼尼龙诱导大鼠 ONFH 的模型中，TLR4 信号通路显著表达，且血浆中 TRAP 浓度升高，MCP-1 蛋白水平也显著升高，使破骨细胞数量增多、活性增强，导致骨吸收增加，造成骨小梁的结构力学改变，引起大鼠激素性股骨头坏死。通常破骨细胞的体积和功能密切相关，因此，融合过程对于提高它的骨吸收能力至关重要。研究表明，TLR4 可促进破骨细胞的融合和存活，并增强其骨吸收功能^[18]。Vijayan 等^[19]研究发现，蛋氨酸通过下调 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路而抑制单核巨噬细胞发育成功能性的破骨细胞，发挥抗吸收作用。

2.3 TLR4/NF- κ B 通路调控骨细胞外基质

研究表明，大量糖皮质激素醋酸泼尼松龙不仅能提高大鼠股骨头骨组织中基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase-2, MMP-2)、基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) mRNA 的水平，而且还能阻止基质金属蛋白酶组织抑制剂-1 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1, TIMP-1)、基质金属蛋白酶组织抑制剂-2 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-2, TIMP-2) mRNA 的表达，认为糖皮质激素可能通过影响 MMPs/TIMPs 上调破骨细胞的活性和生成，显著增强骨吸收，加速骨细胞凋亡和骨基质降解，从而导致股骨头坏死^[20]。研究表明，TLR4/NF- κ B 通路可以促进骨基质的降解，造成骨质疏松、骨骼变形，出现骨小梁微骨折，最终引起股骨头坏死^[21]。董扬等^[22]发现，黄芪多糖 (astragalus polysaccharides, APS) 可以抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号传导途径，降低 MMP2 的表达及 MMP2/TIMP-2 比率，显著增加 TIMP-2 mRNA 表达，调节细胞外基质动态平衡。Yu 等^[23]发现，上调 TLR-4，可激活 NF- κ B 通路从而诱导巨噬细胞分泌 MMP-9，显著升高 MMP-9/TIMP-1 比值，加重炎症反应。

3 炎症因子在 SONFH 中发挥着关键作用

在 MyD88 依赖的经典 TLR4/NF- κ B 信号通路中，识别 LPS 后 TLR4 经历寡聚化进而激活 NF- κ B 并进入细胞核，促进炎症介质产生，如细胞因子 (TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-2 等)，影响骨骼新陈代谢，加速骨吸收，阻碍骨再生，破坏骨稳态，从而引发 SONFH。其中研究较多的炎症细胞因子是 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6。

TNF- α 是 SONFH 发生发展中的重要炎症介质，随着 SONFH 的病程进展，TNF- α 含量也会急剧上升，这表明它和 SONFH 之间存在着密切的联系，是十分重要的破骨细胞诱导剂，能促进成熟的破骨细胞形成骨吸收陷窝，增加骨吸收^[24]。Xu 等^[25]通过研究发现 TNF- α 能促进破骨细胞增殖、分化，增加其数量。TNF- α 不仅可以促进骨的吸收，还可以抑制骨的形成，影响骨重塑，导致骨代谢失调。有学者研究发现，使用 TNF- α 干预后，大鼠骨钙素和 Runx 相关的转录因子 2 (runt related transcription factor2, Runx2) 的表达被抑制，成骨分化能力显著减弱，阻碍骨的形成^[26]。Geng 等^[27]发现，流体剪切应力能抑制 TNF- α 诱导的成骨细胞凋亡，促进骨形成。

IL-1 β 是参与骨代谢的促炎细胞因子之一，具有显著的促进骨吸收的功效，能直接作用于破骨细胞，

通过促进破骨细胞活性、抑制其凋亡引起骨吸收^[28]。IL-1 β 也可以通过扩大炎症反应加速破骨细胞分化,增强骨吸收^[29]。杨国柱等^[30]研究发现,护骨胶囊能下调炎症因子IL-1 β 浓度,减少炎症损害,减弱骨吸收效应等,防止SONFH的进一步发展。IL-1 β 不仅是一种有效的骨吸收刺激剂,而且是一种有效的成骨抑制剂。Matsumoto等^[31]研究发现,IL-1 β 抑制了BMP-2和转化生长因子 β 1 (transforming growth factor beta1, TGF- β 1)对骨形成的诱导,显著减少骨体积。研究也发现,IL-1 β 的存在会显著抑制牙周膜干细胞的成骨分化。而加入Bay 11-7082阻断NF- κ B信号通路后成骨有关基因及蛋白表达水平增加^[32]。

IL-6在骨代谢平衡系统中也起着重要作用,可以促进骨骼破骨细胞的生成,加强骨的吸收,导致骨质流失。Yokota等^[33]发现,IL-6可以刺激破骨前体细胞,诱导破骨细胞分化,促进骨吸收。IL-6刺激破骨细胞是通过促进间充质成骨细胞谱系细胞以接触依赖的方式支持破骨细胞的形成,而使用IL-6抑制剂曲珠单抗治疗可抑制破骨细胞介导的骨破坏^[34]。同时研究表明,IL-6在骨小梁骨形成的骨发育过程中有一定的抑制作用。Kaneshiro等^[35]发现,IL-6能够激活蛋白酪氨酸磷酸酶 (Src homology-2-containing protein tyrosine phosphatase 2, SHP2) /丝裂原激活蛋白激酶 (mitogen activated protein kinase-2, MEK2) /胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 和 SHP2/磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) /蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt2) 两条信号通路,这两条信号通路能够有效地抑制成骨细胞的分化,最终引起骨质疏松。De Benedetti等^[36]报道,在幼龄小鼠模型中,血液中IL-6高表达,而小鼠骨骼发育迟缓和骨量减少、骨形成减少及骨化不良,可见IL-6在骨形成中发挥重要作用。

其他的炎症因子研究较少,但对SONFH的发生也有一定的作用。李光庭等^[37]通过使用激素诱导大白兔股骨头坏死,发现干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)水平的增加很有可能是SONFH发生发展的重要原因之一。并且应用疏血通及骨肽注射液等药物有助于减少血液IFN- γ 的水平,从而促进坏死骨的修复以及新骨的形成。农峰等^[38]收集了72例ONFH患者的血清样本,并与正常人进行比较发现,其IL-33 (interleukin-33)和C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)的水平均有所升高,且这种增长趋势会因病情

的恶化而变得更为明显,这表明IL-33和CRP对于ONFH的发生发展起着至关重要的作用。有研究发现,SONFH兔的血液中IL-19 (interleukin-19)和IL-20 (interleukin-20)水平显著升高,然而通过使用高压氧治疗后,IL-19和IL-20明显减少,炎症反应减轻,进而降低股骨头坏死的风险^[39]。

4 展望

SONFH是由多种机制、多种因素共同作用造成的一种病理状态,因其发病率高、致残率高、治愈率低,成为危害人类健康的难题。研究发现,TLR4/NF- κ B信号通路与SONFH之间存在紧密的联系。因此,研究TLR4/NF- κ B信号通路与SONFH的相关性,有助于更好地认识SONFH的发病机制,制订出更加精准的治疗方案,从而更好地支持临床实践。但是目前关于TLR4/NF- κ B信号通路在SONFH发病过程中的具体作用机制尚未完全阐明。进一步研究TLR4/NF- κ B在SONFH中的作用及原理,针对通路中潜在的治疗靶点的研究,可以为SONFH的防治、新药开发及其他医学领域的科学研究带来新的思路和突破。

参考文献

- [1] 孙懿,赵海燕,成杰,等. 激素性股骨头坏死发生机制的研究进展[J]. 中国矫形外科杂志, 2023, 31 (1): 58-62. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.01.11.
Sun Y, Zhao HY, Cheng J, et al. Research progress in the mechanism of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. Orthopedic Journal of China, 2023, 31 (1): 58-62. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2023.01.11.
- [2] 孙墨渊,杨光耀,张蕾蕾,等. 股骨头坏死愈胶囊联合头颈部开窗打压植骨治疗非创伤性股骨头坏死的临床疗效观察[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2022, 30 (6): 42-47.
Sun MY, Yang GY, Zhang LL, et al. Clinical observation of treatment of non-traumatic osteonecrosis of the femoral head with osteonecrosis of the femoral head capsule combined with fenestration and bone grafting in the head and neck [J]. Chinese Journal of Traditional Medical Traumatology & Orthopaedics, 2022, 30 (6): 42-47.
- [3] 马茂潇,张雪,刘又文,等. 股骨头坏死巨噬细胞极化现象的研究进展[J]. 中国矫形外科杂志, 2022, 30 (23): 2150-2154. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.23.08.
Ma MX, Zhang X, Liu YW, et al. Research progress of macrophage polarization in Osteonecrosis of femoral head [J]. Orthopedic Journal of China, 2022, 30 (23): 2150-2154. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.23.08.
- [4] Jiang C, Zhou Z, Lin Y, et al. Astragaloside IV Ameliorates Steroid-Induced Osteonecrosis of the Femoral Head by Repolarizing

- the Phenotype of Pro-Inflammatory Macrophages [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 2021: 107345. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.107345.
- [5] 温家宾, 沈彬. Toll 样受体信号通路与骨关节炎相关性的研究进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2012, 30 (13): 1206-1208. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2012.13.15.
- Wen JB, Shen Bin. Research progress on the relationship between Toll-like receptor signaling pathway and osteoarthritis [J]. *Orthopedic Journal of China*, 2012, 20 (13): 1206-1208. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2012.13.15.
- [6] 郭灵, 程忠平. Toll 样受体 4 介导子宫内膜异位症发病机制的研究进展 [J]. *国际妇产科学杂志*, 2020, 47 (5): 485-489. DOI: 10.3969/j.issn.1674-1870.2020.05.001.
- Guo Ling, Cheng ZP. Toll-like receptor 4 mediates the pathogenesis of endometriosis [J]. *International Journal of Obstetrics Gynecology*, 2020, 47 (5): 485-489. DOI: 10.3969/j.issn.1674-1870.2020.05.001.
- [7] 农汝楠, 王竞静, 吴燕春, 等. 基于 TLR4 信号通路的中药抗肝脏疾病作用研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25 (16): 201-212. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20191405.
- Nong RN, Wang JJ, Wu YC, et al. Advances in the study of anti-liver disease effects of traditional Chinese medicine based on TLR4 signaling pathway [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2019, 25 (16): 201-212. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20191405.
- [8] Lepetsos P, Papavassiliou KA, Papavassiliou AG. Redox and NF- κ B signaling in osteoarthritis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 132: 90-100. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.025.
- [9] 卢非凡, 张启栋, 王卫国, 等. 激素性股骨头坏死信号通路的研究进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2018, 26 (11): 1017-1021. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2018.11.11.
- Lu FF, Zhang QD, Wang WG, et al. Research progress on signal pathway of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. *Orthopedic Journal of China*, 2018, 26 (11): 1017-1021. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2018.11.11.
- [10] Asea A, Rehli M, Kabingu E, et al. Novel signal transduction pathway utilized by extracellular Hsp70: role of toll-like receptor (TLR) 2 and TLR4 [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277 (17): 15028-15034. DOI: 10.1074/jbc.M200497200.
- [11] 邓爽, 彭昊. 激素性股骨头坏死发生机制的新认识 [J]. *中国医药导报*, 2017, 14 (34): 29-32.
- Deng S, Peng H. New understanding of the mechanism of steroid-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. *China Medical Herald*, 2017, 14 (34): 29-32.
- [12] 易世杰, 赵礼金. TLR4 及其作用的研究进展 [J]. *蛇志*, 2013, 25 (2): 183-187. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5639.2013.02.045.
- Yi SJ, Zhao LJ. Advances in TLR4 and its role [J]. *Journal of Snake*, 2013, 25 (2): 183-187. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5639.2013.02.045.
- [13] 田雷, 周东生, 孙水, 等. Toll 样受体 4 信号通路过度激活在大鼠激素性股骨头坏死中的作用 [J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2014, 35 (5): 622-629. DOI: 10.7652/jdyxb201405011.
- Tian L, Zhou DS, Sun S, et al. Role of over-activation of Toll-like receptor 4 signaling pathway in steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in rats [J]. *Journal of Xi'an Jiaotong University (Medical Sciences)*, 2014, 35 (5): 622-629. DOI: 10.7652/jdyxb201405011.
- [14] Adapala NS, Yamaguchi R, Phipps M, et al. Necrotic bone stimulates proinflammatory responses in macrophages through the activation of Toll-Like receptor 4 [J]. *Am J Pathol*, 2016, 186 (11): 2987-2999. DOI: 10.1016/j.ajpath.2016.06.024.
- [15] Pei J, Fan L, Nan K, et al. Excessive activation of TLR4/NF- κ B interactively suppresses the canonical Wnt/ β -catenin pathway and induces SANFH in SD Rats [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1): 11928. DOI: 10.1038/s41598-017-12196-8.
- [16] Huang RL, Yuan Y, Zou GM, et al. LPS-stimulated inflammatory environment inhibits BMP-2-induced osteoblastic differentiation through crosstalk between TLR4/MyD88/NF- κ B and BMP/Smad signaling [J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23 (3): 277-289. DOI: 10.1089/scd.2013.0345.
- [17] Tian L, Zhou DS, Wang KZ, et al. Association of Toll-Like receptor 4 signaling pathway with steroid-induced femoral head osteonecrosis in rats [J]. *J Huazhong Univ Sci Tech Med Sci*, 2014, 34 (5): 679-686. DOI: 10.1007/s11596-014-1336-7.
- [18] Mörmann M, Thederan M, Nackchbandi I, et al. Lipopolysaccharides (LPS) induce the differentiation of human monocytes to osteoclasts in a tumour necrosis factor (TNF) alpha-dependent manner: a link between infection and pathological bone resorption [J]. *Mol Immunol*, 2008, 45 (12): 3330-3337. DOI: 10.1016/j.molimm.2008.04.022.
- [19] Vijayan V, Khandelwal M, Manglani K, et al. Methionine down-regulates TLR4/MyD88/NF- κ B signalling in osteoclast precursors to reduce bone loss during osteoporosis [J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171 (1): 107-121. DOI: 10.1111/bph.12434.
- [20] 王建忠, 王坤正, 时志斌, 等. 长期应用糖皮质激素对大鼠股骨头骨组织 MMPs/TIMPs 系统的影响 [J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2011, 32 (6): 754-757.
- Wang JZ, Wang KZ, Shi ZB, et al. Effect of long-term application of glucocorticoid on MMPs/TIMPs system in rat femoral head [J]. *Journal of Xi'an Jiaotong University (Medical Sciences)*, 2011, 32 (6): 754-757.
- [21] 陈景涛, 陈有, 李玉静, 等. 黄芪多糖抑制 Toll 样受体 4/核因子 KB p65 通路治疗大鼠膝关节关节炎 [J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27 (31): 5002-5008. DOI: 10.12307/2023.184.
- Chen JT, Chen Y, Li YJ, et al. Astragalus polysaccharide inhibits Toll-like receptor 4/nuclear factor kappa B P65 pathway in the treatment of knee osteoarthritis in rats [J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2023, 27 (31): 5002-5008. DOI: 10.12307/2023.184.
- [22] 董扬, 张芬, 李幸幸, 等. 黄芪多糖对急性心肌梗死大鼠心室重构及 Mirna-21 的影响 [J]. *海南医学院学报*, 2021, 27 (8): 572-578. DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20201127.001.

- Dong Y, Zhang F, Li XX, et al. Effects of astragalus polysaccharides on ventricular remodeling and Mirna-21 in rats with acute myocardial infarction [J]. *Journal of Hainan Medical University*, 2021, 27 (8): 572-578. DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20201127.001.
- [23] Yu WC, Cong JP, Mi LY. Expressions of toll-like receptor 4 (TLR-4) and matrix metalloproteinase 9(MMP-9)/tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1) in pulmonary blood vessels with chronic obstructive pulmonary diseases and their relationships with pulmonary vascular remodelling [J]. *Rev Assoc Med Bras*, 2018, 64 (4): 361-367. DOI: 10.1590/1806-9282.64.04.361.
- [24] 袁普卫, 刘德玉, 贺西京, 等. 激素性股骨头缺血性坏死血清中 TNF- α 变化的实验研究 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2004, 12 (6): 53-54.
- Yuan PW, Liu DY, He XJ, et al. Experimental study on the change of TNF- α in serum of steroid-induced avascular necrosis of femoral head [J]. *Orthopedic Journal of China*, 2004, 12 (6): 53-54.
- [25] Xu H, Tong G, Yan T, et al. Transcriptomic analysis provides insights to reveal the BMP6 function related to the development of intermuscular bones in zebrafish [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 12: 821471. DOI: 10.3389/fcell.2022.821471.
- [26] Yang F, Jia Y, Sun Q, et al. Raloxifene improves TNF- α -induced osteogenic differentiation inhibition of bone marrow mesenchymal stem cells and alleviates osteoporosis [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20 (1): 309-314. DOI: 10.3892/etm.2020.8689.
- [27] Geng B, Wang CF, Zhang B, et al. Fluid shear stress inhibits TNF- α -induced osteoblast apoptosis via Erk5 signaling pathway [J]. *BiochemBiophys Res Commun*, 2015, 466 (1): 117-123. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.08.117.
- [28] 李玉梅, 圣小平, 陈永强, 等. 加味三根汤含药血清对成骨-破骨细胞共育体系中破骨细胞功能及 IL-1 β 、TNF- α 表达的影响 [J]. *上海中医药杂志*, 2015, 49 (5): 95-98. DOI: 10.16305/j.1007-1334.2015.05.030.
- Li YM, Sheng XP, Chen YQ, et al. Effects of serum containing Jiawei Sangan decoction on osteoclast function and expression of IL-1 β and TNF- α in osteoclast-osteoclast co-culture system [J]. *Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2015, 49 (5): 95-98. DOI: 10.16305/j.1007-1334.2015.05.030.
- [29] Jiang N, An J, Yang K, et al. NLRP3 inflammasome: a new target for prevention and control of osteoporosis [J]. *Front Endocrinol*, 2021, 12: 752546. DOI:10.3389/fendo.2021.752546.
- [30] 杨国柱, 周方策, 卢丽, 等. 护骨胶囊对激素性股骨头坏死大鼠炎症因子的影响 [J]. *中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*, 2021, 14 (6): 621-627. DOI: 10.3969/j.issn.1674-2591.2021.06.006.
- Yang GZ, Zhou FC, Lu L, et al. Effect of Hugu capsule on inflammatory factors in rats with steroid-induced osteonecrosis of femoral head. [J]. *Chinese Journal of Osteoporosis and Bone Mineral Research*, 2021, 14 (6): 621-627. DOI: 10.3969/j.issn.1674-2591.2021.06.006.
- [31] Matsumoto A, Takami M, Urano E, et al. Lipopolysaccharide (LPS) inhibits ectopic bone formation induced by bone morphogenetic protein-2 and TGF- β 1 through IL-1 β production [J]. *J Oral Biosci*, 2020, 62 (1): 44-51. DOI: 10.1016/j.job.2020.01.004.
- [32] 李群, 周纯香. IL-1 β 经 NK-kB 通路对牙周膜干细胞成骨成分调控的机制研究 [J]. *中国美容医学*, 2020, 29 (9): 95-99. DOI: 10.15909/j.cnki.cn61-1347/r.003939.
- Li Q, Zhou CX. Effects of IL-1 β on osteogenesis of periodontal ligament stem cells via NK-kB pathway [J]. *Chinese Journal of Aesthetic Medicine*, 2020, 29 (9): 95-99. DOI: 10.15909/j.cnki.cn61-1347/r.003939.
- [33] Yokota K, Sato K, Miyazaki T, et al. Characterization and function of tumor necrosis factor and interleukin-6-induced osteoclasts in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2021, 73 (7): 1145-1154. DOI: 10.1002/art.41666.
- [34] Sims NA. Cell-specific paracrine actions of IL-6 family cytokines from bone, marrow and muscle that control bone formation and resorption [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 79: 14-23. DOI: 10.1016/j.biocel.2016.08.003.
- [35] Kaneshiro S, Ebina K, Shi K, et al. IL-6 Negatively regulates osteoblast differentiation through the SHP2/MEK2 and SHP2/AKT2 pathways in vitro [J]. *J Bone Mine Metabol*, 2014, 32 (4): 378-392. DOI: 10.1007/s00774-013-0514-1.
- [36] De Benedetti F, Rucci N, Del FA, et al. Impaired skeletal development in interleukin-6-transgenic mice: a model for the impact of chronic inflammation on the growing skeletal system [J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54 (11): 3551-3563. DOI: 10.1002/art.22175.
- [37] 李光庭, 赵斌, 刘秀华, 等. 激素性股骨头缺血性坏死应用云克综合疗法的实验研究 [J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2015, 9 (11): 2174-2178. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2015.11.033.
- Li GT, Zhao C, Liu XH, et al. An experimental study on the treatment of steroid-induced avascular necrosis of the femoral head with Yunke complex therapy [J]. *Chinese Journal of Clinicians (Electronic Edition)*, 2015, 9 (11): 2174-2178. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2015.11.033.
- [38] 农峰, 唐毓金, 廖林波, 等. 股骨头坏死患者血清白细胞介素-33 和 C-反应蛋白水平及其临床意义 [J]. *广西医学*, 2017, 39 (2): 141-143.
- Nong F, Tang YJ, Liao LB, et al. Serum levels of interleukin-33 and c-reactive protein in patients with osteonecrosis of the femoral head and their clinical significance [J]. *Guangxi Medicine*, 2017, 39 (2): 141-143.
- [39] 武连华, 高春锦, 杨晋才, 等. 高压氧对激素性股骨头坏死兔血中 IL19、IL20 的影响 [J]. *中华航海医学与高压医学杂志*, 2010, 5: 276-279. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-6906.2010.05.007.
- Wu LH, Gao CJ, Yang JC, et al. Effects of hyperbaric oxygen on serum IL-19 and IL-20 in rabbits with steroid-induced osteonecrosis of femoral head [J]. *Chinese Journal of Navigational Medicine and Hyperbaric Medicine*, 2010, 17 (5): 276-279. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-6906.2010.05.007.

(收稿:2023-05-10 修回:2023-10-20)

(同行评议专家:李宏宇,朱立新,马惠昇)

(本文编辑:宁桦)