

## 云南白药对骨折愈合过程中血管生成的影响<sup>\*</sup>

杨庆秋<sup>1</sup>, 胡侦明<sup>2</sup>, 浦波<sup>3</sup>, 劳汉昌<sup>3</sup>

(1. 云南省第三人民医院, 云南昆明 650011; 2. 重庆医科大学附属第一医院, 重庆 400016;  
3. 昆明医学院第二附属医院, 云南昆明 650101)

**[摘要]** 目的: 观察云南白药主要成分对兔骨折愈合过程中血管生成的影响。方法: 将新西兰大白兔 100 只, 随机分为 5 组, 每组 20 只, 手术制作所有兔桡骨中段骨干缺损模型, 分别在左侧缺损间植入含有白药 1~6 号粉剂的医用明胶海绵, 作为实验组。右侧同样手术处理, 只是骨缺损中植入不含白药粉的医用明胶海绵, 作为对照组, 通过免疫组化方法, 观察不同时期 1~6 号白药原药成分对骨痂组织血管内皮生长因子、血管内皮细胞粘附分子 CD31 表达的影响, 以了解骨痂组织血管新生情况。结果: 在骨折愈合的早期及中期, 1~6 号白药原药成分增加骨痂中 VEGF 及 CD<sub>31</sub> 基因的表达水平; 各组以术后 2 周表达水平最高, 术后 12 周表达水平最低。结论: 白药原药成分在骨折愈合的早、中期, 具有提高骨折后骨痂组织 VEGF 及 CD<sub>31</sub> 基因表达的作用, 从而加速断端微血管新生重建, 改善骨折肢体的血液循环, 促进骨折愈合。

**[关键词]** 骨折愈合; 云南白药; 原药成分; 血管生成

**中图分类号:** 274.1; R683 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000—2723(2011)05—0044—05

骨折的修复离不开血管的形成, 血管生成在骨的新生、再生和修复过程中都起着重要作用<sup>[1]</sup>。研究发现: 血管内皮细胞 (vascular Ecs) 或外膜细胞 (pericyte) 可分化成成骨细胞或前细胞 (precursor cell), 这意味着血管直接参与了骨形成, 血管新生和新骨生成可能具有同源性<sup>[2]</sup>。血管形成, 恢复骨折端供血是骨折修复的前提, 新生血管的建立, 对骨折段供氧、提供营养物质, 运输代谢废物, 为局部骨再生及代谢提供有利的微环境。可以确信, 在骨折愈合的过程中血管形成和血氧供给起着重要的调节作用。因此, 血管生成是骨折愈合过程中的重要环节, 骨折部位良好的血液供应对骨折修复具有重要意义<sup>[3]</sup>。

云南白药由名贵药材制成, 具有化瘀止血、活血止痛、抗炎愈伤之功效, 问世百年来, 云南白药以其独特、神奇的功效被誉为“中华瑰宝、伤科圣药”。研究中医治疗骨折的内在机制, 尤其是从分子生物学角度探讨药物对骨折愈合的影响机制是近年来的研究热点。本实验通过观察云南白药主要成分在兔骨折愈合过程中对骨痂组织血管生成的影

响, 拟从分子生物学水平对其作用机制作深入的探讨。现将结果报道如下:

### 1 材料

#### 1.1 实验动物

健康新西兰长耳大白兔 100 只, 10 月龄, 体重 (2.0~2.5) kg, 雌雄不限, 由昆明医学院实验动物中心统一提供并饲养, 清洁级。

#### 1.2 主要药品

1、2、3、4、6 号白药配伍由云南白药集团提供 (钴 60 辐照消毒); 实验用 VEGF 单克隆抗体, 100ug 包装 (浓缩型), 购自美国 Chemicon 公司, CD31 单克隆抗体, 100uL 包装, 购自德国 Santa Cruz 公司 (浓缩型), SABC 免疫组化试剂盒为武汉博士德生物工程有限公司产品。

#### 1.3 主要仪器设备

光学显微镜 (OLYMPUS, Japan) 由昆明医学院肿瘤病理研究室提供; BI2000 免疫组化图像分析系统由昆明医学院肿瘤病理研究室提供。

### 2 方法

#### 2.1 动物模型制作及分组

<sup>\*</sup> 基金项目: 云南省自然科学基金资助项目 (NO: 2004C0068M)

收稿日期: 2011—03—16 修回日期: 2011—07—15

作者简介: 杨庆秋 (1964~), 男, 辽宁沈阳人, 博士研究生在读, 主要从事骨外科临床、教学及科研工作。

白兔自由摄食、饮水,常温饲养,适应性1周后开始实验,采用柴氏<sup>[4]</sup>方法复制模型。实验时,取完全随机法分为5组,每组均为20只新西兰大白兔,每只兔称重后,以3%戊巴比妥钠(30mg/kg)从兔耳静脉缓慢静推麻醉后仰卧位固定,先用80g/L硫化钠溶液脱除双侧前肢中段外侧兔毛,裸露直径约3.0cm的圆斑。无菌条件下取左前肢中段外侧纵行切口,于肱肌间隙进入,暴露桡骨,于旋前圆肌止点远端截除桡骨中段20mm,造成中段骨干缺损模型,分别在缺损间植入含有1~6号白药粉(300mg)的医用明胶海绵,逐层闭合伤口,不做内外固定,作为实验组,依据植入的白药原药编号分别编为白药1,2,3,4,6号实验组。后于右侧同样手术处理,只是骨缺损中植入不含白药粉的单纯医用明胶海绵,作为相应对照组。观察动物的呼吸、循环稳定后,小心放置于饲养笼内,标记实验分组及时间于标签上,同等条件下单笼常规饲养,术后肌肉注射青霉素20万u,每日1次,连续3d,预防感染。

## 2.2 标本制备

各组动物分别于术后第2、4、8、12周时各处死5只,取含骨折部分在内的桡骨骨痂区1~2cm组织段,剔除软组织。标本置入4%多聚甲醛溶液固定24h,硝酸脱钙,脱钙后标本经彻底冲洗,沿中轴矢状面剖开,经酒精逐级脱水、透明、浸蜡后石蜡包埋,4μm厚作连续切片,然后进行免疫组织化学染色。

## 2.3 骨痂 VEGF 及 CD31 免疫组化检测

石蜡块作纵向间断连续切片,脱蜡后分别经甲醇双氧水封闭内源性酶,正常羊血清封闭非特异性染色,链霉亲合素-生物素酶复合物(streptavidin-biotinidase complex, SABC)法检测骨痂组织中VEGF及CD31的表达情况。使用浓缩型SABC免疫组化试剂盒,操作按试剂盒说明书进行,阴性对照以PBS代替一抗。显微镜下观察,呈棕色着色为VEGF及CD31阳性表达。免疫组化染色片用自动彩色图像分析系统测定细胞内棕黄色颗粒的平均光密度值进行半定量分析。

## 2.4 统计学方法

采用PEMS3.1统计软件包处理数据,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,与对照组比较采用 $t$ 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

# 3 结果

## 3.1 各实验组与对照组 VEGF 的表达比较

术后2周,实验组及对照组在成骨细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞、破骨细胞及新形成的软骨细胞内检测到VEGF的阳性表达,其中软骨细胞的阳性最强,阳性细胞数目最多。可见在第2周时有VEGF的分泌高峰,各组中以1号白药组合表达阳性程度最强,其中1号白药、2号白药组表达的平均光密度(OPTDM)与对照组相比有明显差异( $P < 0.05$ ),而3、4、6号白药组合VEGF的表达与对照组相比无明显差异( $P > 0.05$ )。4周时,各组出现软骨岛及新生骨小梁,可见更多的新生小血管和软骨成分,并在新骨形成区可见VEGF的阳性信号,其中1、2、6号白药组表达的平均光密度(OPTDM)与对照组相比有明显差异( $P < 0.05$ ),而3、4号白药组合VEGF的表达与对照组相比无明显差异( $P > 0.05$ )。术后8周,各组VEGF仍呈持续阳性表达,程度开始下降,表达以骨细胞、软骨细胞和成骨细胞为主,其中1、2、4号白药组表达的平均光密度(OPTDM)与对照组相比有明显差异( $P < 0.05$ ),而3、6号白药组合VEGF的表达与对照组相比无明显差异( $P > 0.05$ )。术后12周,各组VEGF表达强度明显减弱,阳性物主要出现在成骨细胞和破骨细胞中有零星表达;各组间着色差别不明显,各白药组合VEGF的表达与对照组相比无明显差异( $P > 0.05$ )。

## 3.2 各实验组与对照组 VEGF 表达的平均光度值分析比较见表1

## 3.3 各实验组与对照组 CD31 的表达比较

术后2周,CD31免疫组化染色阳性表达仅见于血管内皮细胞,各组中以1号白药组合表达阳性程度最强,阳性细胞数目最多,可见在第2周时有CD31的分泌高峰,其中1、2、4、6号白药组表达的平均光密度(OPTDM)与对照组相比有明显差异( $P < 0.05$ ),而3号白药组合CD31的表达与对照组相比无明显差异( $P > 0.05$ )。4周时,各组可见更多的新生小血管成分,CD31免疫组化染色阳性表达,其中1、2、4号白药组表达的平均光密度(OPTDM)与对照组相比有明显差异( $P < 0.05$ ),而3、6号白药组合VEGF的表达与对照组相比无明显差异( $P > 0.05$ )。术后8周,各组CD31仍呈持续阳性表达,程度开始下降,其中1、2、3号白

药组表达的平均光密度（OPTDM）与对照组相比有明显差异（ $P < 0.05$ ），而 4、6 号白药组合 CD31 的表达与对照组相比无明显差异（ $P > 0.05$ ）。术后 12 周，新生骨小梁间可见丰富毛细血管形成，呈窦隙状，各组 CD31 的表达强度明显减弱，各组间着色差别不明显，除 2 号白药组表达

的平均光密度（OPTDM）与对照组相比有明显差异（ $P < 0.05$ ）外，各白药组合 CD31 的表达与对照组相比无明显差异（ $P > 0.05$ ）。

3.4 各实验组与对照组细胞 CD31 表达的平均光度值分析比较见表 2。

表 1 各实验组与对照组细胞 VEGF 表达的平均光度值比较结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别     | 2 周                | 4 周                | 8 周                 | 12 周               |
|--------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| 1 号白药组 | 0.3856 ± 0.02673 * | 0.3498 ± 0.05829 * | 0.2542 ± 0.03464 *  | 0.1657 ± 0.03575   |
| 对照组    | 0.3154 ± 0.04453   | 0.1941 ± 0.02513   | 0.1922 ± 0.02144    | 0.1492 ± 0.03271   |
| 2 号白药组 | 0.3647 ± 0.02579 * | 0.3736 ± 0.06947 * | 0.3436 ± 0.009833 * | 0.08271 ± 0.009151 |
| 对照组    | 0.2697 ± 0.01795   | 0.2947 ± 0.005105  | 0.2753 ± 0.02005    | 0.07675 ± 0.008651 |
| 3 号白药组 | 0.2735 ± 0.03748   | 0.2097 ± 0.03164   | 0.1914 ± 0.023      | 0.08533 ± 0.02152  |
| 对照组    | 0.2554 ± 0.06513   | 0.1833 ± 0.02745   | 0.1949 ± 0.02013    | 0.0515 ± 0.01656   |
| 4 号白药组 | 0.3579 ± 0.02583   | 0.3832 ± 0.07024   | 0.2789 ± 0.04035 *  | 0.1795 ± 0.01772   |
| 对照组    | 0.3409 ± 0.05565   | 0.3137 ± 0.007589  | 0.1882 ± 0.0197     | 0.1152 ± 0.01468   |
| 6 号白药组 | 0.2482 ± 0.04328   | 0.2868 ± 0.01013 * | 0.19 ± 0.02269      | 0.1305 ± 0.03731   |
| 对照组    | 0.278 ± 0.04213    | 0.3589 ± 0.04633   | 0.163 ± 0.04376     | 0.1635 ± 0.01565   |

与对照组比较\*， $P < 0.05$

表 2 各实验组与对照组细胞 CD31 表达的平均光度值比较结果 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别     | 2 周                | 4 周                | 8 周                | 12 周               |
|--------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 1 号白药组 | 0.3601 ± 0.02353 * | 0.3442 ± 0.04876 * | 0.1689 ± 0.02211 * | 0.07186 ± 0.04903  |
| 对照组    | 0.225 ± 0.0226     | 0.2846 ± 0.03125   | 0.1172 ± 0.02768   | 0.04104 ± 0.00494  |
| 2 号白药组 | 0.2686 ± 0.03033 * | 0.325 ± 0.04426 *  | 0.3527 ± 0.03032 * | 0.1242 ± 0.02553 * |
| 对照组    | 0.1843 ± 0.01492   | 0.2356 ± 0.02636   | 0.2582 ± 0.08257   | 0.09635 ± 0.01025  |
| 3 号白药组 | 0.3341 ± 0.03073   | 0.2657 ± 0.04356   | 0.2992 ± 0.02639 * | 0.1393 ± 0.01343   |
| 对照组    | 0.3238 ± 0.0574    | 0.2173 ± 0.0265    | 0.1969 ± 0.02584   | 0.164 ± 0.03058    |
| 4 号白药组 | 0.358 ± 0.04128 *  | 0.3517 ± 0.03555 * | 0.2926 ± 0.1033    | 0.1195 ± 0.03308   |
| 对照组    | 0.137 ± 0.0221     | 0.2746 ± 0.0595    | 0.2279 ± 0.01404   | 0.1616 ± 0.02591   |
| 6 号白药组 | 0.3427 ± 0.02135 * | 0.3716 ± 0.02352   | 0.286 ± 0.02856    | 0.1409 ± 0.007892  |
| 对照组    | 0.2559 ± 0.06227   | 0.3359 ± 0.02767   | 0.3316 ± 0.03003   | 0.1152 ± 0.01808   |

#### 4 讨论

骨折愈合各阶段, 为完成骨重建而出现的微血管形成属血管新生。血管新生是指人出生后在创伤、炎症等病理状态下由病灶区邻近组织内微血管上芽生出新的毛细血管的过程, 是一个非常复杂而严格受控的过程, 每一个环节都需要多种因素的相互配合才能有序的进行<sup>[5]</sup>, 血管新生贯穿骨折愈合的始终, 骨折的修复离不开血管新生形成, 血管新生可能与诸多因子有关, 其中血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 可特异性作用于血管内皮细胞, 促进其增殖和血管生成, 决定着血管形成的量与时间, 并可增加血管通透性<sup>[6]</sup>, 因此尤为重要。而新生血管形成又是支持成骨细胞成骨所必需<sup>[7]</sup>, 正如 Connolly 指出的: “骨折愈合完全依靠血管再形成过程, 评价骨折愈合过程完全依靠血管再形成过程<sup>[8]</sup>”。

骨折后局部微血管的再形成是使断端恢复血供, 提供愈合所需要的营养、氧供, 清除病理代谢产物的最根本基础, 更重要的是新生毛细血管的长入为骨折修复区带入了更多定向性和诱导性骨祖细胞, 这些细胞可以不断分化为成骨细胞或成软骨细胞, 同时, 血管内皮细胞 (vascular endothelial cells, VEC) 亦可转化而直接参与成骨活动<sup>[9]</sup>。近年对骨折直接愈合过程的研究表明<sup>[10]</sup>, 这一种愈合方式的特点就是建立在血管生成性成骨过程基础上, 它是在断端坚强固定, 紧密接触的前提下, 先由骨折两端骨皮质破骨细胞的“钻椎”样扩张, 继之活跃的成骨细胞随毛细血管长入相对侧, 使骨单位重建完成。因此, 断端微血管生长的速度往往决定着骨组织结构恢复的时间和质量。

由于新生血管细小而有序, 需要借助内皮细胞特异性标志物的免疫组化染色方法, 加以计数, 目前最常用的是抗 CD31 单克隆抗体。CD31 即血小板内皮细胞黏附分子 (platelet endothelial cell adhesion molecule-1, PECAM-1), CD31 主要存在于血管内皮细胞的细胞质中, 因此可作为鉴定血管内皮细胞的特异性标志, 用免疫组化对它们进行半定量计数可反映骨折愈合过程中骨痂组织的血管化程度。

云南白药广泛应用于临床各科, 特别是对于骨折治疗有其独特的疗效, 其治疗骨折在我国已有百年的历史, 而且取得了很好的疗效, 已作为现实存

在我们生活中对骨折治疗的一种重要手段。现代药理学研究证明<sup>[10]</sup>, 白药具有促进血小板凝聚、收缩主动脉、促进皮质激素分泌作用, 对炎症过程的介质释放、毛细血管渗透性增强、结缔组织增生等环节均有抑制作用, 临床上用于骨折治疗有其独特的疗效。

在本实验中, 1、2、3、4、6 号白药组与对照组在骨折愈合的过程中, VEGF 及内皮细胞特异性标志物 CD31 在骨痂局部的表达具有一定的相似性, 即表达趋势均为先增高, 随后慢慢减退, 推测与骨折愈合过程中细胞的变化相关, 符合正常骨折愈合的变化规律。目前研究表明, 骨折后早期骨折局部由于出血, 组织细胞坏死, 炎性细胞反应引起了血流中断, 此时的 VEGF 及 CD31 表达量较弱。骨折早期出现的血液流变异常和微循环障碍是影响骨折愈合的重要机制之一<sup>[11]</sup>, 骨折后中期, 随着骨折的修复, 肉芽组织的生长加快使得血供相对减少, 氧分压降低, 低氧强烈诱导 VEGF 的表达<sup>[12]</sup>。骨痂中的巨噬细胞、血小板、软骨细胞及间充质细胞通过旁分泌或自分泌方式产生该细胞因子, 使 VEGF 与其他血管生成因子共同促进血管内皮细胞增殖、分化和血管形成。所以, 大约在骨折后 3~4 周 VEGF 及 CD31 的表达量达到高峰。在骨修复的后期, 随着局部环境的改善, 低氧状态得以纠正, 间充质细胞及软骨细胞逐渐分泌 VEGF 减少, 而成骨细胞在后期表达 VEGF 也趋平稳。随着骨折后愈合时间延长, 骨痂微血管逐渐变稀疏, 血管进入“塑形”阶段, 故 VEGF 及 CD31 的表达明显减少。

本实验结果显示, ①创伤骨折后折端 VEGF 及 CD31 表达贯穿于骨折愈合的全过程, 骨折愈合的不同阶段, 骨痂组织内出现程度不同 VEGF 及 CD31 的表达。②1~6 号白药成分有促进骨痂组织内 VEGF 表达, 作用明显强于对照组。③骨痂局部内皮细胞特异性标志物 CD31 的表达检测结果显示, 1~6 号白药成分有明显促进 CD31 表达的作用, 且其表达规律与血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 的表达呈正相关关联。这与初同伟、武永刚等实验报道<sup>[13-14]</sup>相似。

对本实验结果作进一步分析, 发现 1、2、3、4、6 号白药在骨折愈合的过程中对血管生成的影响具有其明显不同的特点: 即显示出这样一种趋

势,原药的组成成分越多,则与对照组比较具有显著性差异的时间点越多,似乎表现出这样一种规律,组成成分越多,其对骨折愈合过程中血管生成的影响越明显。

本实验通过检测骨痂组织中 VEGF 及 CD31 的表达,结果显示在骨折早期,云南白药具有促进新生微血管生长形成,扩充断端毛细血管的作用,从而加速了骨折局部血液循环的重建,使骨折部位得到良好的血供;血管的增加,早期有利血肿吸收机化,中期能促进成骨过程。因此,根据实验结果推断,云南白药对骨折愈合过程中早、中期能加速和改善与骨折修复相应的血管新生,从而达到促进骨折愈合的目的。

综上所述,虽然本实验采用促进骨折愈合的云南白药原药成分对骨折愈合过程中血管生成的影响作了一定的探索,从分子生物学水平显示白药通过提高骨折断端骨痂组织内 VEGF 表达,从而刺激骨折早期骨痂新生微血管的增生形成,加速骨折后期骨痂内微血管改建完善,从而促进骨折愈合过程,并且显示出复方制剂能够发挥更为积极的促进作用,但是骨折愈合是一个十分复杂的过程,对血管生成的影响是众多原药成分中某种药物起主要作用,还是多种药物共同起作用的,各原药成分之间是否存在纵横交叉、多层面的相互作用、相互影响,以及影响血管生成的量效关系是怎样的等问题,均有待以后作深入的研究。

#### [参考文献]

- [1] Dina Lewinson, Gila Maor, Nimrod Rozen, et al. Expression of vascular antigens by bone cells during bone regeneration in a membranous bone distraction system [J]. *Histochem Cell Biol.* 2001, 116: 381-388.
- [2] Liu Z, Luyten FP, Lammens J, et al. Molecular signaling in bone fracture healing and distraction osteogenesis [J]. *Histol Histopathol.* 1999, 14: 587-95.
- [3] Akeno N, Czyzyk-Krzeska MF, Gross TS. Hypoxia induces vascular endothelial growth factor gene transcription

in human osteoblast-like cells through the hypoxia-inducible factor-2 alpha [J]. *Endocrinology.* 2001, 142 (2): 959-962.

- [4] 柴本甫. 骨折模型 [J]. *中华外科杂志*, 1962, 1 (5): 299-301.
- [5] 何有娣, 黎燕. FGF 和 VEGF 在血管生成中的作用 [J]. *国外医学药学分册*, 2001, 26 (6): 326-329.
- [6] Ferrara N, Davis-smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor [J]. *Endocr Res.* 1997, 18 (8): 4.
- [7] Joseph A, Buckwalter, MD, MS; 陈启明等. 骨科基础科学 [M]. 人民卫生出版社, 2001: 52-56.
- [8] Connolly JF. Injectable bone marrow preparations to stimulate osteogenic repair. *Clin Orthop Relat Res.* 1995, 313 (4): 8-18.
- [9] 柳申鹏, 宋敏. 微血管系统在骨折愈合过程中的重建作用和影响因素 [J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2005, 13 (3): 57-60.
- [10] 朱大忠. 云南白药的药理及临床研究进展 [J]. *中西医结合杂志*. 1987, 7 (6): 377-379.
- [11] Yang L, Li Q, Zhou Z. Experimental studies of segmental bone defects treated by skeletal external fixation [J]. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* 1996, 34 (11): 688-691.
- [12] Shifren TL, Doldi N, Ferrara N, et al. In the human fetus vascular endothelial growth factor is expressed in epithelial cells and myocytes, but not vascular endothelium; implications for mode of action. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994, 79 (7): 316-322.
- [13] 初同伟, 王正国, 朱佩芳, 等. 骨折愈合过程中血管内皮生长因子基因扩增及蛋白表达 [J]. *中华实验外科杂志*, 2002, 19 (4): 367-368.
- [14] 武永刚, 陈君长, 王坤正, 等. 血管内皮细胞生长因子在骨折愈合过程中的表达 [J]. *西安医科大学学报*, 2001, 22 (1): 51-53.

(编辑: 岳胜难)

(英文摘要见第 51 页)

人民卫生出版社, 1997: 45.

[2] 曾庆余. 骨关节炎 [M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1999: 38 - 41.

[3] 王敏, 王敏华, 江勇, 等. 针灸治疗膝骨性关节炎临床疗效观察 [J]. 光明中医, 2007, 22 (7): 6.

[4] 肖达, 陈汉平, 赵粹英, 等. 艾灸对老年人衰老见证和 T 细胞亚群的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 1996, 23 (12): 563.

[5] 何成奇, 熊恩富, 熊素芳, 等. 穴位注射与运动疗法治疗膝关节炎的疗效观察 [J]. 中华理疗杂志, 2000, 23 (5): 271.

(编辑: 迟 越)

**Clinical Observation on Moxibustion – Warmed Needling  
for the Non Effusion Osteoarthritis in the Knees**

ZUO Zheng, JIANG Yun – wu

(Yunnan University of TCM, Kunming Yunnan, 650021)

[**ABSTRACT**] Objective: To investigate the clinical efficacy on moxibustion – warmed needling for the non effusion osteoarthritis in the knees. Methods: 50 patients of non effusion knee osteoarthritis were randomly divided in two groups. The treatment group (moxibustion – warmed needling ) 25 cases, using moxibustion – warmed needling therapy (choose acupuncture point: xuehai, heding, dubi, liangqiu, lixiyan, yinlingquan, xiyangguan, yaoyangguan, shenshu); The control group in 25 patients received Celebrex (Celecoxib) Capsules by oral. Results: treatment group and control group could relivies painness of non effusion osteoarthritis in the knees. The response rate was 96% in the treatment group and 72% in the control group. There was asignificant defference in clinical efficacy between the two group ( $P < 0.01$ ). Conclusion: The curative effecctwas better in the treatment group than in the contral group, and moxibustion – warmed needling is a efficacy method to non effusion osteoarthritis in the knees.

[**KEY WORDS**] knee osteoarthritis; non effusion; acupuncture; moxibustion – warmed needling

(原文见第 44 页)

**Effects of Major Components in Yunnan Baiyao on Angiogenesis  
during the Process of Fracture Healing**

YANG Qing – qiu<sup>1</sup>, HU Zhen – ming<sup>2</sup>, PU Bo<sup>3</sup>, LAO Han – chang<sup>3</sup>

(1. The 3rd Hospital of Yunnan Province, KunmingYunnan, 650011;

2. The 1st Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016;

3. The 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650101, China)

[**ABSTRACT**] Objective: To observe the effects of major components in Yunnan Baiyao on the Angiogenesis during the process of experimental rabbit fracture healing. Methods: 100 New Zealand rabbits were employed and randomly divided into 5 groups in this experiment. After the fracture model of both radius was established by operation , every medical gelatin sponge which contains number1, 2, 3, 4, 6 Yunnan Baiyao component be put into all left bone defect of radius separately as 1, 2, 3, 4, 6 Yunnan Baiyao group, and put an medical gelatin sponge which contains nothing into all the right defect as matching control group. To observe the effect of Yunnan Baiyao on the expression of VEGF and CD<sub>31</sub> at different intervals was observed in the course of bone healing. Results: The expression levels of VEGF and CD<sub>31</sub> in number1 – 6 Yunnan Baiyao group was surpassed to that of control group at the early and middle stage of fracture healing and the highest levels of expression was the 2 weeks after operation, and the lowest was 12 weeks after operation. Conclusion: Yunnan Baiyao can enhance the expression of VEGF and CD<sub>31</sub> in the callus tissue, accelerate the vascularization at the broken ends of fractured bone, improve the blood circulation of the fractured extremity, thus it promote the healing of fractured bone.

[**KEY WORDS**] fracture healing; Yunnan Baiyao; components; angiogenesis