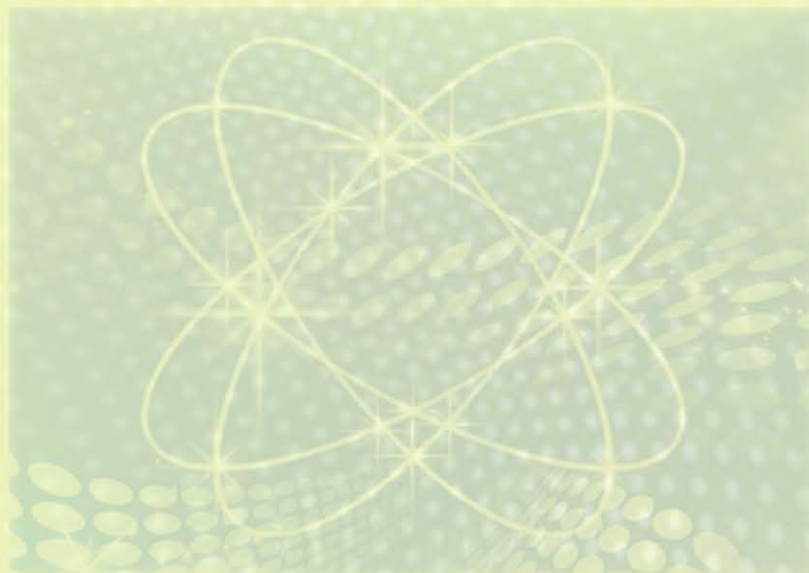


郭铁峰毕业答辩论文



分类号:

密级:

甘肃中医学院

硕 士 研 究 生 学 位 论 文

论文题目（中文）血瘀质非创伤性股骨头坏死患者相关基因多态性研究

论文题目（外文）Study on polymorphisms related genes in patients with osteon ecrosis of the Femoral traumatic femoral non blood stasis

研 究 生 姓 名 郭铁峰

学 科、专 业 中医骨伤科学

研 究 方 向 中医药防治骨关节疾病的研究

导师姓名、职称 李盛华教授 主任医师

论 文 工 作

起 止 年 月 2012 年 2 月至 2013 年 12 月

论文提交日期 2014 年 3 月

论文答辩日期 2014 年 5 月

学位授予日期 2014 年 6 月

独创性声明

本人声明所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。学位论文中凡引用他人已经发表或未发表的成果、数据、观点等，均已明确注明出处。除文中已经注明引用的内容外，不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的科研成果。对本研究做出贡献的个人和集体均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

论文作者签名： 签字日期：2014年 6月 6日

学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解甘肃中医学院有关保留、使用学位论文的规定，本人同意学院保存或向国家有关部门或机构送交论文的纸质版和电子版，允许论文被查阅和借阅。本人授权甘肃中医学院可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用任何复制手段保存、汇编学位论文。

(保密的学位论文在解密后适用本授权书)

学位论文作者签名： 签字日期：2014年 6月 6日

导师签名： 签字日期：2014年 6月 6日

目 录

摘 要.....	1
ABSTRACT.....	4
英文缩略词表.....	7
前 言.....	8
第一部分 立题依据.....	9
1 NONFH 发病机制相关研究.....	9
2 NONFH 病因病机相关基因多态性研究.....	9
3 中医血瘀质与 NONFH 发病机制相关性研究.....	10
4 中医血瘀质相关基因多态性研究.....	11
第二部分 研究内容与结果.....	13
一、APOA1 位点多态性与血瘀质 NONFH 的相关性研究.....	14
1. 研究内容.....	14
1.1 一般资料.....	14
1.2 诊断及纳入标准.....	14
1.3 病例调查及血液标本采集.....	14
1.4 资料处理与分组.....	15
1.5 实验材料.....	15
1.6 中医体质分类及判定标准.....	18
2. 研究方法.....	18
2.1 血液 DNA 提取.....	18
2.2 PCR 扩增.....	18
2.3 PCR 扩增产物的酶切.....	19
2.4 统计学方法.....	20
3. 研究结果.....	20
3.1 基因检测及分型结果.....	20
3.2 APOA1 基因-75G > A 位点多态性与血瘀质 NONFH 的关系.....	22
3.3 APOA1 基因+83C > T 位点多态性与血瘀质 NONFH 的关系.....	23
4. 结论.....	24
二、PAF-AH G994T 位点多态性与血瘀质 NONFH 的相关性研究.....	25
1. 研究内容.....	25

1.1 一般资料.....	25
1.2 诊断及纳入标准.....	25
1.3 病例调查及血液标本采集.....	25
1.4 资料处理与分组.....	25
1.5 实验材料.....	25
1.6 中医体质分类及判定标准.....	25
2. 研究方法.....	25
2.1 血液 DNA 提取.....	25
2.2 PCR 扩增.....	25
2.3 统计学方法.....	26
3. 研究结果.....	26
3.1 基因检测及分型结果.....	26
3.2 PAF-AH 基因 G994T 位点多态性与血瘀质 NONFH 的关系.....	27
4. 结论.....	28
三、NOS1 基因 RS9658282 位点多态性与血瘀质 NONFH 的相关性研究.....	29
1. 研究内容.....	29
1.1 一般资料.....	29
1.2 诊断及纳入标准.....	29
1.3 病例调查及血液标本采集.....	29
1.4 资料处理与分组.....	29
1.5 实验材料.....	29
1.6 中医体质分类及判定标准.....	29
2. 研究方法.....	29
2.1 血液 DNA 提取.....	29
2.2 PCR 扩增.....	29
2.3 统计学方法.....	30
3. 研究结果.....	30
3.1 基因检测及分型结果.....	30
3.2 PAF-AH 基因 G994T 位点多态性与血瘀质 NONFH 的关系.....	31
4. 结论.....	32
第三部分 讨论.....	33
1. APOA1 位点多态性与血瘀质 NONFH 的相关性研究.....	34

2. PAF-AH G994T 位点多态性与血瘀质 NONFH 的相关性研究.....	35
3. NOS1 基因 RS9658282 位点多态性与血瘀质 NONFH 的相关性研究.....	35
结语.....	37
参考文献.....	38
附 录.....	43
附录 1 NONFH 中医体质类型及相关基因多态性研究病例调查表.....	43
附录 2 图片资料.....	60
附录 3 攻读硕士研究生期间发表的学术论文.....	65
致 谢.....	67

中文摘要

目的: 根据前期非创伤性股骨头坏死 (nontraumatic Osteonecrosis of the Femoral Head, NONFH) 中医体质类型研究, 我们发现中医血瘀质是 NONFH 的高发体质类型之一, 本研究通过检测血瘀质 NONFH 患者中 ApoA1、PAF-AH G994T 及 NOS1 基因多态性, 探讨中医血瘀体质与非创伤性股骨头坏死 (NONFH) 的相关性, 为通过体质辨别运用中医药调体干预 NONFH 提供新的思路和理论依据。

方法: 2012 年 10 月-2013 年 10 月, 对甘肃省中医院骨科门诊及住院部确诊为 NONFH 的患者进行中医体质量表调查并采集血液样本, 共收集血瘀质 NONFH 血液样本 32 例、非血瘀质 NONFH 血液样本 61 例作为病例组, 同时收集非血缘关系健康志愿者血液样本 83 例作为对照组, 调查前均知情同意。所有调查、收集均按统一设计的研究病例报告表逐项进行问卷调查。检测血瘀质 NONFH、非血瘀质 NONFH 及对照组中 ApoA1、PAF-AH G994T 及 NOS1 基因多态性, 统计检测结果, 对三组数据进行两两比较, 对数据采用 SPSS18.0 软件进行统计学分析。

结果:

1. ApoA1 基因-75G>A 位点 AA 基因型 (OR: 2.578; 95%CI : 1.174-5.663, $P=0.018$) 与 A 等位基因 (OR: 1.726; 95%CI : 1.121-2.658, $P=0.013$) 可能是 NONFH 发病的危险因素之一。A 等位基因 (OR: 1.780; 95%CI: 1.102-2.875, $P=0.018$) 可能是非血瘀质 NONFH 发病的危险因素之一。
2. PAF-AH 基因 G994T 位点 GT 基因型 (OR: 4.558; 95%CI: 1.193-17.415, $P=0.027$) 与 T 等位基因 (OR: 4.190; 95%CI : 1.142-15.376, $P=0.031$) 可能是血瘀质高发 NONFH 的危险因素之一。
3. NOS1 基因 rs9658282 位点 TT 基因型 (OR: 3.052; 95%CI: 1.038-8.977, $P=0.043$) 可能是 NONFH 发病的危险因素之一。NOS1 基因 rs9658282 位点 TT 基因型 (OR: 4.160; 95%CI: 1.173-14.756, $P=0.027$) 可能是血瘀质高发 NONFH 的危险因素之一。

结论:

1. ApoA1 基因-75G>A 位点突变可能是非血瘀质 NONFH 发病的分子生物学机制之一。
2. PAF-AH 基因 G994T 位点突变可能是血瘀质高发 NONFH 的分子生物学机制之一。
3. NOS1 基因 rs9658282 位点突变可能是血瘀质高发 NONFH 的分子生物学机制之一。

关键词：非创伤性股骨头坏死；血瘀质；血小板活化因子乙酰水解酶；神经元一氧化氮合成酶；载脂蛋白 A1

ABSTRACT

Objective: According to early non-traumatic avascular necrosis of the femoral head (non-traumatic Osteonecrosis of the Femoral Head, NONFH) body constitution types of traditional Chinese medicine, we found that Chinese medicine blood stasis is one of the high incidence of NONFH type of constitution, this research through the detection of blood stasis in patients with NONFH ApoA1, PAF-AH G994T and NOS1 gene polymorphisms, TCM Blood Stasis constitution and non-traumatic avascular necrosis of the femoral head (NONFH) correlation, and provide new ideas and theoretical basis for the use of Chinese medicine regulating body physical identification of the intervention of NONFH.

Methods: In 2012 October-2013 year in October, the Department of orthopedics in out-patient and in-patient department were diagnosed as NONFH patients to carry on the questionnaire survey and blood samples were collected from the blood stasis constitution in Chinese medicine, NONFH blood samples of 32 patients with non blood stasis, blood samples from 61 patients with NONFH as case group, at the same time collecting non blood relationship blood samples from 83 healthy volunteers cases as the control group, the investigation was informed consent. All the survey, collected according to uniform design research report item by item questionnaire. Detection of blood stasis in NONFH, NONFH and non blood stasis in the control group, ApoA1, PAF-AH G994T and NOS1 gene polymorphism, the statistical results, the data of the three groups were two, and the data were statistically analyzed using SPSS18.0 software.

Results: 1. ApoA1 -75G>A gene AA genotype and A allele may be one of the risk factors of NONFH. The A allele may be one of the risk factors of non blood stasis pathogenesis of NONFH.

2. PAF-AH G994T gene GT genotype and T allele may be one of the risk factors of blood stasis in NONFH.

3. NOS1 rs9658282 gene TT genotype may be one of the risk factors of NONFH. NOS1 rs9658282 gene TT genotype may be one of the risk factors of blood stasis in NONFH

Conclusion: 1. ApoA1 gene -75G>A mutation may be the molecular mechanism of pathogenesis of NONFH of non blood stasis

2. PAF-AH gene G994T mutation may be the molecular mechanism of blood stasis in the NONFH one

3. NOS1 gene rs9658282 mutation may be the molecular mechanism of blood stasis in the NONFH one

Key words: non-traumatic osteonecrosis of femoral head; the blood stasis Platelet activating factor acetylhydrolase gene; nerve nitric oxide synthase gene; apolipoprotein A1 gene

英文缩略词表

缩略词	英文名称	中文名称
NONFH	nontraumatic Osteonecrosis of the Femoral Head	非创伤性股骨头坏死
PAF-AH	Platelet activatingfactor acetylhydrolase	血小板活化因子乙酰 水解酶
ncNOS	nerve nitricoxide synthase	神经元一氧化氮合成酶
ApoA1	apolipoprotein A1	载脂蛋白 A1
DNA	Deoxyribonucleic	脱氧核糖核酸
dNTP	Deoxynucleoside triphosphate	单脱氧核苷三磷酸
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic acid	乙二胺四乙酸
Gel	Gelview	核酸染料
PCR	Polymerase chain reaction	聚合酶链反应
SPSS	Statistical package for social science	社会科学统计软件包
TBE	Trisboracic acid electrophoresis	三氨基甲烷磷酸电泳
TCM	Traditional Chinese Medicine	中医学

前 言

非创伤性股骨头坏死(nontraumatic Osteonecrosis of the Femoral Head, NONFH)属中医“骨痹”、“血痹”、“骨痿”、“骨蚀”等范畴,是常见的骨关节疑难疾病。由于对其病因病机的研究尚不完全明确,所以对本病的预防和治疗一直是骨科的研究热点之一。近年来对NONFH的研究进展显示,其发病与激素、酒精的过度摄入关系密切,但对它们诱发本病的机制,尤其是分子生物学机制尚处于研究阶段,并无统一、清晰的认识。所以在治疗上存在着很大的不确定性,对于早期不同分型的NONFH尚无一种成熟有效的治疗方法。中医药防治NONFH因其标本兼治、整体观念的治疗思路一直是骨科研究的重点之一。目前,虽然中医药防治NONFH显示出了一定的优势,但是尚缺乏一套完整的、具有系统性的诊疗方案。原因一是由于中医各家治疗NONFH侧重点不同,不论是症型划分,或用药施治,均没有建立统一的诊疗体系。二是目前少有从现代分子生物学水平全面、系统的对中医药防治NONFH的机制进行研究,从而一定程度上阻碍了该病的中医药防治进展。

中医体质学主张和重视对个体体质状态的辨析,是辨体预防学术思想和个体预防的优势所在。体质是指人体的素禀之质,即机体在发育过程中,身体状况的强弱及其与疾病斗争过程中所表现出的稳定的个体特征。中华中医药学会于2009年4月9日发布了我国第一部指导和规范中医体质研究及应用的技术性文件《中医体质分类与判定》标准。本标准规定了中医关于体质的术语及定义、中医体质的9种基本类型、中医体质类型的特征、中医体质分类的判定。根据前期研究结果中医血瘀质是NONFH的高发体质类型之一,其病理基础主要以血脉阻塞不通,血液运行不畅为主,目前虽无研究表明血瘀质与NONFH具有相关性,但已有研究证实血瘀体质类型更易患缺血性疾病,并且“血管内凝血和微血管损伤学说”亦是NONFH病机学说之一,这与血瘀质病理基础相似,所以我们拟以血管内凝血和微血管损伤相关基因多态性为切入点,探讨血瘀质高发NONFH的相关机制。

中医体质学重视遗传与环境等影响体质的相关因素在疾病过程中的作用,对揭示中医病因有独特的优势。随着中医现代化的发展,从分子水平阐释中医体质与股骨头坏死的相关性,应用中医“治未病”理论探讨预防、治疗的方法,为走出防治NONFH的困境提供了新思路、新方法。

第一部分 立题依据

1. NONFH 发病机制相关研究

非创伤性股骨头坏死 (nontraumatic osteonecrosis of femoral head, NONFH) 是骨科常见疑难病之一, 目前对其病因和发病机制尚不完全了解, 对于 NONFH 病因病机的研究主要以过量摄入激素类药物及酒精中毒等为主, 其发病原理有多种假说, 其中得到广泛认同的学说主要有: (1) 脂肪栓塞学说; (2) 血管内凝血和微血管损伤学说; (3) 骨质疏松学说, (4) 二次碰撞学说; (5) 骨内高压学说; (6) 骨髓基质细胞成脂分化学说^[1-3]。激素及酒精都被认为是 NONFH 发生的诱因, 但不是所有使用过激素及酒精的人都会发生股骨头坏死, 李子荣^[4]等对 SARS 病人随访发现接受大剂量激素治疗的患者中仅有 32.7% 发展为股骨头缺血坏死, 同样的道理, 不是所有大量饮酒的人都会发生 NONFH。

我们前期研究结果^[5]显示 NONFH 的病因病机以过量摄入激素类药物及酒精中毒引起脂代谢紊乱为主, 脂代谢紊乱是 NONFH 发病的重要机制之一, 可引起一系列的血管病变, 这与近期相关文献报道相一致^[6], 其机制主要是: ①血管栓塞 脂肪滴随血流流经较细的股骨头微小动脉时, 形成栓塞, 阻断微循环血供^[7]。②血管损伤 血液中游离脂肪酸增多造成微血管内皮细胞功能障碍, 主要包括活性氧的产生、凋亡的诱导以及内皮细胞依赖性血管舒张功能的异常^[8]。③血管修复功能异常 游离脂肪酸破坏血管内皮细胞增殖与凋亡的平衡, 导致血管修复功能减弱。④凝血异常 游离脂肪酸引起促凝血状态, 纤维溶解活性降低, 血小板的活性和功能增强。由此可见, 脂代谢紊乱引起血脂增高是 NONFH 血管病变的重要因素, 而最终引起的微循环障碍也是血瘀质的潜在病理机制, 所以脂代谢紊乱对血瘀质 NONFH 的发病起到关键作用。但很少有研究将引起“脂代谢紊乱——血管病变”的分子机制引入 NONFH 病因病机的探讨中, 我们则以此为切入点, 进行深入研究以期进一步揭示 NONFH 的发病机理。

2. NONFH 病因病机相关基因多态性研究

有学者认为其发病机理可能与基因变异有关, 为此国内外专家做了一些关于基因多态性与股骨头坏死相关性方面的研究, 目前的研究主要集中在与凝血异常及脂代谢异常相关基因多态性上。与脂代谢紊乱相关的基因研究, 主要集中在载脂蛋白A和载脂蛋白B作为脂类代谢的重要蛋白, 因其基因多态性和股骨头坏死的联系成为最近研究的热点^[9]。

有研究者^[8-9]发现载脂蛋白 (apolipoprotein, Apo) A1 基因启动区域-75bp 位点A/A型可能是NONFH易感基因之一, 在维持脂质代谢稳态方面起关键作用。有报道PPAR α 2 和 Cbfa1 可能在NONFH 的修复过程中起一个重要作用。ApoA1是高密度脂蛋白 (HDL) 的主要组成蛋白, 作为HDL受体的配基参与胆固醇的逆向转运。Apo A1位于人类11号染色体长臂上约15 kb的基因片段内, 与Apo C3、Apo A4基因呈簇状排列。Apo A1基因转录起始点上游-75 bp处有G/A多态性位点, 第一内含子+83 bp处有C/T多态性位点, 并研究发现载脂蛋白A1基因-75 bp位点G被A取代及+83 bp位点C被T取代或G被A取代后个体血载脂蛋白A1及HDL水平升高; ApoA1基因结构的改变影响着ApoA1的分子结构、生成和向血液中释放的速率, 进而影响血中Apo A1与HDL的水平。Apo B是LDL唯一的结构蛋白, 其主要是与胆固醇结合组成LDL和识别LDL受体, 在脂类的转运和代谢过程中起着极其重要的作用^[10、11]。在已知的动脉粥样硬化相关基因中, Apo B基因具有最明显的多态性, 目前研究较多的是Xba I、Eco RI及Msp I酶切位点多态性和3' 端可变数目串联重复序列 (3' -VNTR)。Apo A1启动子-75bp位点可能不直接影响Apo A1基因的转录, 而和邻近的某个基因存在连锁不平衡, 后者才是引起Apo A1转录速度变化的直接原因^[12、13]。与凝血异常相关的基因有纤溶酶原激活物抑制剂 (PAI-1) 基因, 凝血酶原基因、凝血因子V基因和亚甲基四氢叶酸还原酶 (MTHFR) 基因等。刘丙立等^[14]研究发现亚甲基四氢叶酸还原酶 (MTHFR) 677 C/T 多态性可能与NONFH的易感性相关。Kim等^[15]研究发现韩国NONFH患者 ANXA6亚型基因多态性与NONFH的发生相关。ZhangC等^[16]研究表明NONFH发生与凝血因子 VLeiden突变和凝血酶原20210基因突变也有明显相关性。此外, 对NONFH基因多态性研究比较多的还有肝酶相关基因, 如细胞色素P450 (CYP450), 转运蛋白P-糖蛋白 (P-gp), CREB结合蛋白CBP, 肝脂肪酶启动子区域单核苷酸等。现在大多数的研究都仅限于单个基因与NONFH的相关性研究, 其研究相对片面, 不能很好阐释NONFH复杂的病理变化, 即对本病的预防治疗意义不大, 而我们在研究NONFH过程中引入中医体质学, 就是想通过二者相关性的研究, 为本病的预防治疗提供相关的依据。

3. 中医血瘀质与NONFH发病相关性研究

以上是对NONFH易感因素的相关研究, 易感因素包括遗传因素和后天生活环境因素, 这正好与中医学的中医体质相一致。研究表明不同的中医体质类型会对不同疾病的发生具有倾向性, 已有学者通过基因多态性的研究试图找到不同的中医体质类型与各种疾病的相关性, 荀运浩等^[17]发现中医体质疾病的相关性, 发现中医体质因素和HLA-DQA1基因

多态性均可影响HBV感染的临床结局。钱岳晟等^[18]经研究发现脂联素基因多个位点可能是痰湿质高血压患者胰岛素抵抗的遗传标志之一,且存在性别上的差异。孙艳红等^[19]发现LHON14484位点突变的临床特征与其他位点突变相似,体质类型与LHON发病相关,气郁质对LHON的发病影响显著。前期我们依据中华中医药学会发布的《中医体质分类与判定》标准对NONFH患者中医体质类型分布特点进行研究,发现血瘀质是NONFH的高发体质之一。血瘀质是一种体内有血液运行不畅的潜在倾向或瘀血、死血雍塞血脉、血液离经停积的病理基础,以血瘀表现为主要特征的体质状态^[20]。张敏^[21]等通过对1763例社区人员中医体质筛查分析发现血瘀体质患冠心病的比例明显高于其他类型($P<0.05$),相关研究^[22]发现血瘀质患者血小板易凝集、血管栓塞,易患缺血性疾病,引起微循环障碍致体内血液运行不畅,血瘀质的病理改变与NONFH“血管内凝血和微血管损伤”病因病机学说的病理基础相一致。并且与我们上文提到的“脂代谢紊乱——血管病变”机制相互贯通。

4. 中医血瘀质相关基因多态性研究

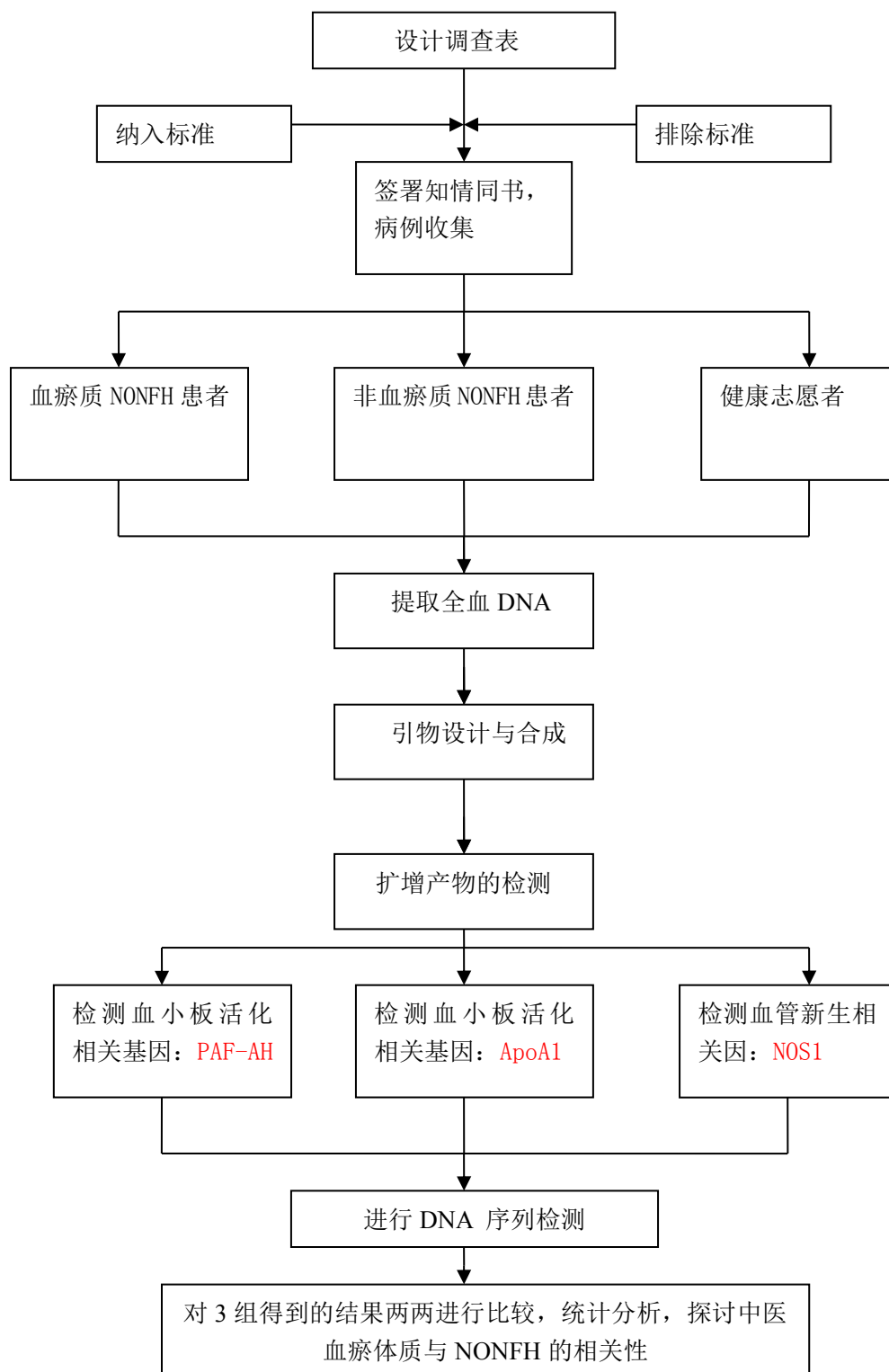
目前还没有研究者对NONFH与中医体质的相关性进行过研究,所以我们将通过基因多态性来研究二者之间是否存在相关性。中华中医药学会发布《中医体质分类与判定》将体质分为9种,血瘀体质是其中一个重要体质类型。血瘀是指血液运行迟缓涩滞、死血雍塞血脉、血脉闭阻不通、血液离经停积等四种病理状态^[22]。研究者对血瘀体质进行基因分析,结果发现血瘀体质者的血小板活化相关基因及血管新生相关基因均发生异常,而这些基因多态性与血管内凝血及血管损伤的修复有密切关系,其中与血小板活化相关的基因多态性有ITGA2B(NM1000419.2)、TREML1(NM178174.2)、GPR68(NM003485.3),与血管新生相关的基因多态性有CIGALT1(NM020156.1),GNA13(NM006572.3)、PTEN(NM000314.4)、HIF1A(NM001530.2),他们的变化均引起致局部血运障碍,导致局部供血不足,这符合NONFH血管内凝血异常和微血管损伤的病因学说。其中血小板活化因子乙酰水解酶(PAF-AH)是血小板质颗粒膜上存在着特异性的糖蛋白,在血小板活化过程中这些膜表面糖蛋白会发生分子构象的改变或数量重排,参与血小板与内皮细胞间的粘附、血小板之间的聚集及血小板与白细胞间的粘附过程,血小板活化后其表面CD62P表达增加至15余倍,成为血小板活化的标志物。血管新生是指在原有血管基础上通过血管内皮细胞增殖、游走、芽生,血管分裂、分支而形成新的毛细血管网,使其功能与局部的需要相适应的生物学过程^[23]。目前发现和应用较多的有促进血管新生特性的生长因

子主要有：血管内皮生长因子（VEGF）家族，成纤维细胞生长因子（FGF）家族，转化生长因子（TGF）。血小板活化因子（PAF）是体内一种重要的磷脂类递质，血小板的活化是机体促进血栓形成的主要因素之一，而基因 ITGA2B 的产物血小板膜糖蛋白 Gp11b、I11a(pMGGp11b、I11a)是血小板在体内活化的重要标志物，与血栓形成有密切关系^[24]。我们在以往的研究中已经发现了采用中药改善血管内皮功能受损状态,降低血液黏稠度,降低骨内压,改善微循环可以治疗早期激素性股骨头坏死^[25]，从侧面亦可反映出 NONFH 与血管新生及血小板活性可能具有相关性。所以检测血瘀体质 NONFH 患者中与血小板活化及血管新生相关基因多态性，并与对照组比较即可判断中医血瘀体质与 NONFH 是否具有相关性，与以往单个基因研究相比，本研究是对多个基因同时进行检测，找到他们之间相互作用关系，这符合疾病是由多个因素共同作用而非单个因素作用所引起这一观念。同时可以为 NONFH 的病因学说提供新的思路。

本研究利用现代分子生物学技术找到祖国医学与现代医学的结合点，运用中医体质学说解释 NONFH 的易感性，从基因水平探讨 NONFH 与中医体质的相关性，为指导 NONFH 辨证诊疗提供依据，同时也为 NONFH 的病因学说的研究提供新的方向，本研究符合祖国医学治未病思想，可从中医体质学角度进一步研究本地区 NONFH 人群的遗传易感因素，对本地区预防及治疗 NONFH 的发生具有重要指导意义，同时为中医体质的遗传学研究提供思路，为中医个体化诊疗的开展提供研究基础。

第二部分 研究内容与结果

技术路线图



血瘀质 NONFH 患者与 ApoA1、PAF-AH 基因 G994T 位点及 NOS1 基因 rs9658282 位点基因多态性研究

一、ApoA1 位点多态性与血瘀质 NONFH 的相关性研究

1. 研究内容

1.1 一般资料:

①本课题临床调查病例均来自甘肃省中医院门诊、住院部就诊 NONFH 患者及健康非血缘关系志愿者,应用临床流行病学方法,参照《中医体质分类与判定》标准制订“非创伤性股骨头坏死中医体质类型及相关基因多态性研究”调查表,中医体质类型划分为:平和质、气虚质、阳虚质、阴虚质、痰湿质、湿热质、血瘀质、气郁质、特禀质 9 种基本类型。于 2012 年 10 月-2013 年 10 月在甘肃省中医院门诊、住院部对 NONFH 患者及非血缘关系健康志愿者进行问卷调查,将调查病例所得数据资料建立数据库,并采集 NONFH 患者血液标本共 93 例、正常健康非血缘关系志愿者 83 例。病例组中血瘀质 NONFH 患者 32 例、非血瘀质患者 61 例(包括气虚质、痰湿质等)。

②研究方法经医院伦理委员会讨论并获得批准。受试者签订知情同意书。

1.2 诊断及纳入标准

1.2.1 西医诊断标准:

参考 2006 年中华医学会骨科学分会关节外科学组提出的股骨头坏死诊断与治疗专家建议^[26]。

1.2.2 中医诊断标准:

参照 2002 年卫生部实施的《中药新药临床研究指导原则》修订版^[27]。

1.2.3 纳入标准

- ①符合中西医诊断标准的股骨头坏死患者(包括接受手术或中医药对症治疗者)。
- ②年龄 18~60 岁。
- ③愿意接受本次科研调查研究者。

1.2.4 排除标准