

· 基础研究 ·

河蚌葡聚糖 HBP-A 对豚鼠膝关节软骨退变的影响[△]

潘富伟¹, 王翔¹, 熊轶喆¹, 张明才¹, 陈博¹, 徐震球¹, 孙蓉², 詹红生¹, 杜国庆^{1*}

(1. 上海市中医药研究院骨伤科研究所, 上海 201203; 2. 上海中医药大学附属曙光医院, 上海 201203)

摘要: [目的] 观察关节内注射不同剂量河蚌葡聚糖 (anodonta glucan, HBP-A) 对豚鼠膝关节软骨退变及相关标志物的影响。[方法] 豚鼠 20 只随机分为五组, 分别为正常组、模型组、低浓度组、中浓度组和高浓度组, 每组 4 只。正常组行右膝假手术处理, 其余动物均行右膝前交叉韧带切断, 建立骨性关节炎模型。术后 3 d, 正常组和模型组右膝关节内注射生理盐水, 而低、中、高剂量组分别注射 7.5 mg/ml、15 mg/ml、30 mg/ml 的 HBP-A 200 μ l, 每周注射 1 次, 连续 5 周。5 周后处死动物, 取右膝关节标本行组织学、免疫组织化学和 qPCR 检测。[结果] 组织学观察见, 与正常组相比, 模型组出现显著软骨退变, 而注射 HBP-A 组织结构显著改善。模型组较正常组 OARS 评分显著增加 ($P < 0.05$), 在给予低、中、高浓度 HBP-A 关节腔注射, OARS 评分呈剂量依赖性显著降低 ($P < 0.05$)。免疫组化方面, 模型组较正常组软骨 ALP、Ihh、Runx2 和 MMP13 的 OD 值显著升高 ($P < 0.05$), 而低、中、高浓度 HBP-A 关节腔注射软骨 ALP、Ihh、Runx2 和 MMP13 的 OD 值呈剂量依赖性显著降低 ($P < 0.05$)。qPCR 检测表明, 模型组较正常组软骨 IL-1 β 、Ihh、Runx2 和 MMP-13 的 mRNA 的相对表达量均显著增加 ($P < 0.05$), 在给予低、中、高浓度 HBP-A 关节腔注射, IL-1 β 、Ihh、Runx2 和 MMP-13 的 mRNA 的相对表达量均呈剂量依赖性显著降低 ($P < 0.05$)。[结论] 关节腔内注射 HBP-A 能够减少或延缓豚鼠膝关节软骨退变程度。

关键词: 骨性关节炎, 河蚌葡聚糖, 关节内注射, 软骨退变

中图分类号: R318 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2022) 19-1781-05

Effect of anodonta glucan HBP-A on cartilage degeneration of the knee in guinea pig // PAN Fu-wei¹, WANG Xiang¹, XIONG Yi-zhe¹, ZHANG Ming-cai¹, CHEN Bo¹, XU Zhen-qiu¹, SUN Rong², ZHAN Hong-sheng¹, DU Guo-qing¹. 1. Institute of Orthopedics, Shanghai Academy of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Abstract: [Objective] To explore the effects of intraarticular injection of anodonta glucan (HBP-A) in different dosages on cartilage degeneration of the knee, and related markers in guinea pigs. [Methods] Twenty guinea pigs were randomly divided into five groups, including the normal group, model group, low concentration group, medium concentration group and high concentration group, with 4 animals in each group. Four animals in the normal group were treated with right knee sham operation, while the remaining all animals were treated with anterior cruciate ligament transection of right knee to establish osteoarthritis (OA) model. Three days later, the normal group and model group were injected with normal saline into right knee joint, while the low, medium and high dose groups were injected with 7.5 mg/ml, 15 mg/ml and 30 mg/ml of HBP-A 200 μ l, respectively, once a week for consecutive 5 weeks. Five weeks later, the animals were sacrificed, and the right knee samples were harvested for histological, immunohistochemical and qPCR assays. [Results] With histological observation, significant changes of cartilage degeneration were found in the model group compared with those in the normal group, whereas which significantly reversed in a dosage-dependent manner in the 3 groups with HBP-A in different dose. OARS score in the model group was significantly higher than that of the normal group ($P < 0.05$), which significantly decreased in a dose-dependent manner in the 3 HBP-A groups ($P < 0.05$). In terms of immunohistochemistry, the optical density (OD) values of ALP, Ihh, Runx2 and MMP13 in the model group were significantly higher than those of the normal group ($P < 0.05$), whereas which declined significantly in the 3 HBP groups in the dose-dependent manner ($P < 0.05$). As results of qPCR assay, the mRNA relative expression levels of IL-1 β , Ihh, Runx2 and MMP-13 in the model group were signif-

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2022.19.11

△基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:82174403,81774340);上海中医药大学预算内项目(编号:2021LK079);上海市重中之重临床重点学科建设项目“中医骨伤科学”(编号:2017ZZ02024);“工效筋骨学”上海市中医药新兴交叉学科资助计划建设项目(编号:沪卫计中发 2017 [024]号);上海中医药大学附属曙光医院四明青年基金项目(编号:SGKJ-201913);2021 年度上海中医药大学“研究生创新培养专项”项目(编号:Y2021088)

作者简介:潘富伟,博士研究生,主治医师,研究方向:慢性筋骨病防治的基础及临床研究,(电话)15003851170,(电子信箱)675199003@qq.com

*** 通信作者:**杜国庆,(电话)13020211816,(电子信箱)530427540@qq.com

ificantly higher than those in the normal group ($P<0.05$), which also reduced significantly after injection of low, medium and high concentrations of HBP-A into the joint cavity in the dose-dependent manner ($P<0.05$). [Conclusion] In this study, intraarticular injection of HBP-A does reduce or delay the cartilage degeneration of the knee in guinea pigs.

Key words: osteoarthritis, anodonta glucan (HBP-A), intraarticular injection, cartilage degeneration

骨性关节炎 (osteoarthritis, OA) 多见于 60 岁以上人群, 且发病年龄逐渐年轻化, 往往病程日久, 严重影响患者生活质量, 随着老龄化社会的到来, OA 的发病率正以惊人的速度增长, 目前对于 OA 的病理环节和治疗观点仍是研究的热点^[1]。目前认为 OA 的病因是在机械应力和生物性因素共同作用的结果, 涉及关节软骨、软骨下骨、半月板、滑膜等多方面病理过程, 而关节软骨退变仍是最重要的、最终的病理环节^[2]。多种促关节软骨分解代谢因子被认为在软骨基质破坏及导致软骨退变中扮演最重要角色^[3], 其中基质金属蛋白酶 13 (matrix metalloproteinase13, MMP13)、Runt 相关转录因子 2 (Runt-related transcription factor2, Runx2)、印度刺猬蛋白 (Indian hedgehog, Ihh) 等都是公认的对软骨基质起降解作用的最重要的代谢因子^[4-6], 其中合适的目的基因、靶细胞、载体等方式是治疗关节软骨损伤的关键内容^[7]。

目前中药对 OA 的治疗起到越来越重要的作用^[8], 课题组前期对单味中药河蚌进行有效成分的提取, 河蚌中的有效单体成分为河蚌葡聚糖 (anodonta glucan, HBP-A), 专利号: ZL200610028598.0, 其为多糖成分, 分子结构与氨基葡萄糖相似, HBP-A 体外添加培养软骨细胞能够抑制 MMP-13 基因及蛋白的表达, 同时提高 Sox-9 蛋白表达, 延缓软骨细胞 II 型胶原的降解^[9], 初步证实了 HBP-A 对软骨细胞退变的潜在作用。为了进一步证实 HBP-A 对软骨组织退变及促关节软骨分解代谢因子的防治作用, 本实验采用不同浓度的 HBP-A 对 OA 模型豚鼠关节内注射, 观察软骨退变和 4 种促关节软骨分解代谢因子的抑制作用, 为 HBP-A 防治 OA 提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 动物分组

3 个月龄雄性无特殊病原体 (specific pathogen free, SPF) 级豚鼠 20 只, 体重 408~441 g, 平均 (421.50±10.57) g; 由中国甲干生物科技有限公司提供 [实验动物许可证: SYXK (沪) 2019-0002]。采用随机数字表法将动物分为五组, 分别为正常组、

模型组、低浓度组、中浓度组和高浓度组, 每组 4 只。

1.2 模型建立

豚鼠气体麻醉后, 取仰卧位固定, 右膝关节区域毛发去除干净, 常规消毒。正常组 4 只动物行假手术处理 (sham surgery, SS), 仅行右侧膝关节髌骨内侧切口, 显露膝关节后, 缝合切口。其余 16 只均行前交叉韧带切断术 (anterior cruciate ligament transection, ACLT) 建立膝 OA 模型, 切开关节后, 将髌骨和髌韧带向外侧脱位, 膝关节弯曲 90°暴露前交叉韧带, 用显微剪剪断前交叉韧带, 抽屉试验阳性为手术成功; 逐层缝合肌肉、皮肤, 待动物清醒放回笼中。

1.3 给药处理

术后 3 d, 正常组和模型组动物右膝关节注射生理盐水 200 μ l, 每周 1 次, 连续 5 周。低、中、高浓度组则分别向右膝关节腔注射 7.5 mg/ml、15 mg/ml、30 mg/ml 的 HBP-A 200 μ l, 每周注射 1 次, 连续 5 周。

1.4 检测方法

第 5 周给药结束后, 采用过量麻醉处死 20 只豚鼠, 于 70% 的酒精中浸泡 6 min 清洁体表, 取右侧膝关节胫骨和股骨关节骨软骨分别进行检测。

1.4.1 组织学检测

取胫骨或股骨的骨软骨标本, 10% 中性甲醛固定, EDTA 脱钙, 石蜡包埋, 制备 5 μ m 的切片, 行番红/固绿染色。烤片、脱蜡、复水, 切片放入固绿染液内 5~10 min, 蒸馏水洗去多余染色, 至软骨无色。0.1% HCl/乙醇分化处理: 将切片置于 0.1% HCl/乙醇分化几秒, 再次用蒸馏水清洗 3 次, 每次 5 min。切片放入番红染液内 15~30 s, 蒸馏水洗 3 次, 每次 5 min。常规方法脱水和透明、中性树脂封片。显微镜观察, 采用国际骨关节炎研究学会组织学 (OARSI) 评分进行评估^[10]。

1.4.2 免疫组织化学检测

分别检测 ALP、Ihh、Runx2 和 MMP13 蛋白的表达。制备 5 μ m 的切片, 烤片、脱蜡、复水。经内源性过氧化氢酶处理、PBS 清洗、抗原修复, 再次 PBS 清洗后, 向组织区域滴加 1% BSA, 室温湿盒

封闭 30 min。向组织区域滴加稀释后相应的一抗溶液，在湿盒中，4℃冰箱孵育过夜。PBS 清洗，滴加二抗，37℃孵育 50 min。PBS 清洗，滴加新鲜配置的 DAB 工作液，湿盒孵育 20~40 s，显微镜下检测染色程度。PBS 清洗，苏木素复染 6 min，自来水洗去残留的苏木素染料，然后置于 0.1% HCL/乙醇分化几秒，自来水清洗。常规脱水、透明化、封片。组织图像导入计算机，采用 Image-Pro plus 7.0 软件 (Media Cybernetics, Bethesda, MD, USA) 进行阳性表达面积定量。

1.4.3 qPCR 检测

分别检测组织 IL-1 β 、Ihh、Runx2 和 MMP-13 的 mRNA 相对表达量。各组取右股骨关节软骨加入 Trizol 进行 RNA 抽提，mRNA 逆转录 37℃孵育 15 min，98℃变性 5 min，4℃保温。配制 qReal-time PCR 反应液，将反应液加入 96 孔板中，将 96 孔板置于 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪中。预变性，95℃，5 min，1 个循环；变性：25℃，10 s；退火 42℃，20 s；延申 85℃，20 s；共 40 个循环；熔解曲线。以 β -actin 作为内参基因。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 15.0 软件对所得数据进行统计分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，首先进行方差齐检验，符正态分布时采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD 法；不符合正态分布时，采用 Krushal-Wallis H 检

验，两两比较采用 Mann-whitney U 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 组织学观察

豚鼠胫骨近端骨软骨组织切片番红/固绿染色见图 1，正常对照组关节软骨面完整光滑，软骨面厚度一致，软骨细胞排列规则，层次清楚，潮线完整，软骨基质染色均匀，呈红色 (图 1a)。模型组关节软骨的表层磨损，软骨层全部消失以及中层和深层也有结构性撕裂，潮线多数消失，基质淡染，细胞出现聚集并且肥大、坏死和排列紊乱 (图 1b)。在给予低 (图 1c)、中 (图 1d)、高浓度 (图 1e) 的 HBP-A 关节腔注射后，各组关节软骨的表层磨损程度逐渐减轻，软骨中层和深层的结构性撕裂逐渐减少，潮线逐渐完整，软骨基质呈红色，细胞出现聚集并且肥大、坏死和排列紊乱现象逐渐好转，在高浓度组，软骨结构与基质、细胞排列基本接近正常组。

OARSI 豚鼠软骨损伤评分结果见表 1，与正常对照组比较，模型组软骨损伤分数增加了 9 倍，出现了严重的损伤。在给予低、中、高浓度 HBP-A 关节腔注射后，软骨损伤评分逐渐降低，呈浓度依赖性，差异有统计学意义 (P<0.05)。

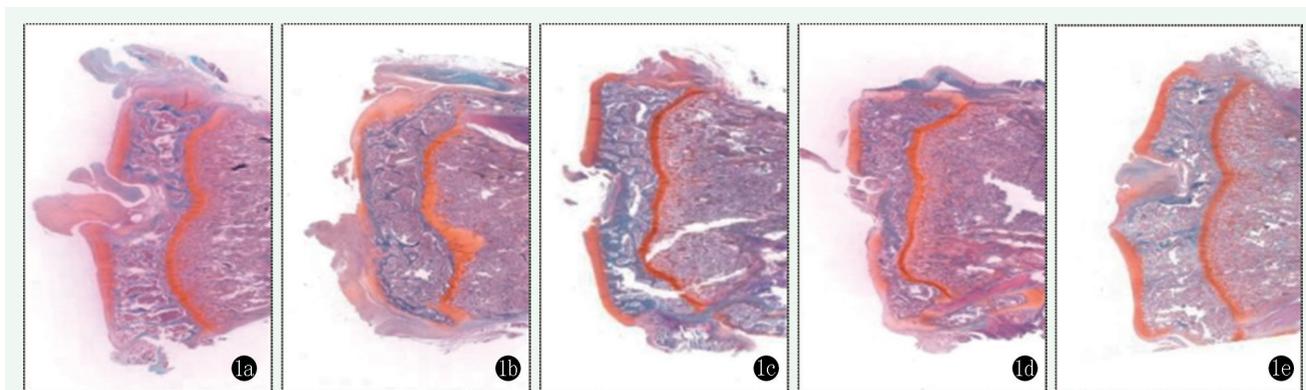


图 1 五组动物胫骨近端骨软骨番红/固绿染色所见 (×40) 1a: 正常组 1b: 模型组 1c: 低浓度组 1d: 中浓度组 1e: 高浓度组与正常组相比，模型组软骨层全部消失以及中层和深层也有结构性撕裂，基质淡染，细胞出现聚集并且肥大、坏死和排列紊乱。经 HBP-A 处理关节软骨的表层磨损程度逐渐减轻，潮线逐渐完整，基质保持呈红色，细胞出现聚集并且肥大、坏死和排列紊乱现象逐渐好转，呈剂量依赖性改变

2.2 免疫组化检测

各组可见棕黄色阳性 ALP、Ihh、Runx2 和 MMP13 的蛋白的表达，主要位于细胞质中。Image-Pro plus 7.0 计量结果见表 1，与正常组相比，模型组 ALP、Ihh、Runx2 和 MMP13 的 OD 值均显著升高

(P<0.05)。在给予低、中、高浓度 HBP-A 关节腔注射后，关节软骨的 ALP、Ihh、Runx2 和 MMP13 的 OD 值均呈剂量依赖性显著下降 (P<0.05)。

2.3 qPCR 检测

qPCR 检测 IL-1 β 、Ihh、Runx2 和 MMP-13 的

mRNA 的相对表达量结果见表 1。与正常组相比，模型组 IL-1 β 、Ihh、Runx2 和 MMP-13 的 mRNA 表达相对表达量均显著增加 ($P<0.05$)。在给予低、中、

高浓度 HBP-A 关节腔注射后，关节软骨的 IL-1 β 、Ihh、Runx2 和 MMP-13 的 mRNA 均呈剂量依赖性下降 ($P<0.05$)。

表 1 五组动物检测结果 ($\bar{x} \pm s$) 与比较

| 指标 | 正常组 (n=4) | 模型组 (n=4) | 低浓度组 (n=4) | 中浓度组 (n=4) | 高浓度组 (n=4) | P 值 |
|-----------------|-----------------|------------------|------------------|-----------------|-----------------|--------|
| OARSI 组织评分 (分) | 2.00 \pm 1.15 | 18.50 \pm 0.58 | 12.75 \pm 0.96 | 7.50 \pm 0.58 | 5.25 \pm 1.26 | <0.001 |
| 免疫组化 (OD 值) | | | | | | |
| ALP | 1.50 \pm 0.71 | 9.00 \pm 2.16 | 5.50 \pm 1.29 | 4.38 \pm 0.48 | 2.63 \pm 0.75 | <0.001 |
| Ihh | 1.63 \pm 0.95 | 11.00 \pm 3.56 | 5.75 \pm 1.50 | 4.00 \pm 0.82 | 2.75 \pm 0.96 | <0.001 |
| Runx2 | 1.63 \pm 0.95 | 13.25 \pm 2.22 | 8.88 \pm 0.85 | 4.25 \pm 0.50 | 2.50 \pm 0.58 | <0.001 |
| MMP13 | 1.63 \pm 0.75 | 8.00 \pm 0.82 | 5.50 \pm 1.29 | 3.63 \pm 0.75 | 2.38 \pm 0.75 | <0.001 |
| qPCR 检测 (相对表达量) | | | | | | |
| IL-1 β | 1.00 \pm 0.08 | 1.67 \pm 0.06 | 1.52 \pm 0.08 | 0.33 \pm 0.03 | 0.26 \pm 0.02 | <0.001 |
| Ihh | 1.00 \pm 0.06 | 3.14 \pm 0.85 | 0.83 \pm 0.03 | 0.33 \pm 0.02 | 0.25 \pm 0.04 | <0.001 |
| Runx2 | 1.01 \pm 0.18 | 1.65 \pm 0.08 | 0.75 \pm 0.04 | 0.17 \pm 0.01 | 0.07 \pm 0.01 | <0.001 |
| MMP13 | 1.00 \pm 0.04 | 2.09 \pm 0.09 | 0.89 \pm 0.04 | 0.39 \pm 0.02 | 0.15 \pm 0.00 | <0.001 |

3 讨论

既往中药研究主要以口服给药为主，具有一定副作用和吸收差等特点，因此基于前期研究，本研究进一步验证从关节腔给药方法，探讨 HBP-A 对关节软骨退变的保护作用，更符合临床实际。本实验中，通过 SO 染色和 OARSI 评分方法，证实在给予不同浓度 HBP-A 关节腔注射后，软骨磨损情况逐渐好转，组织内细胞死亡数降低，蛋白多糖含量丢失减少，各浓度组胫骨关节软骨 Runx2、MMP13 和 Ihh 蛋白和 mRNA 的表达明显低于模型组，呈剂量一致性，说明 HBP-A 关节腔给药是一种直接有效的方法。

目前，虽然研究发现 OA 的发病机制和年龄、创伤、性别、种族、遗传、肥胖、饮食、骨密度等危险因素相关，其发病机制较为复杂，然而多数学者普遍认为软骨退变仍为该病的核心病理改变，亦是目前的主要研究方向^[11, 12]。关节软骨的退变在结构上主要包括软骨层消失、潮线破坏、骨赘形成以及软骨下骨硬化囊性变、胶原蛋白和蛋白多糖含量减少，细胞出现聚集并且肥大、坏死和排列紊乱等改变^[13, 14]。关节软骨退变主要是由于促合成与促分解代谢动态失衡^[15]，修复关节软骨为主要目的^[16]。多数学者认为，在这个失衡过程中多种促分解代谢因子扮演着重要的角色，如 MMP13、Runx2、Ihh 等多种因子。MMP13 是降解软骨的主要靶向酶，它不仅可以降解软骨组织中的 II 型胶原蛋白，还可以降解软骨中的

蛋白多糖、骨粘连蛋白和基底膜蛋白聚糖等，是引起 OA 发生发展的重要调节因子^[17, 18]。Runx2 是最重要的转录因子之一，能够促进其下游信号因子如 MMPs、X 型胶原等因子的表达，从而导致关节软骨的退变^[19]。当 OA 发生时，软骨细胞出现了一种类似于软骨内成骨的分化过程：软骨细胞肥大、终末分化、骨化、最后凋亡，而在这一过程中，人体内出现了一系列胶原蛋白、非胶原蛋白以及细胞因子的改变或可作为用于临床诊治 OA 的相关生物标志物，如 Ihh^[20]。本课题主要以关节软骨结构性改变和主要促软骨分解代谢因子为研究靶点，具有 OA 研究的代表性和公认性，能够为药物治疗 OA 提供科学数据和可靠方案。

上海中医药大学附属曙光医院石氏伤科石印玉教授认为“益肾更宜柔肝，活血还需养血，养血软坚以柔肝润筋当属合度”。故在前期临床基础上研制出柔肝中药“怀珍养肝胶囊”，其药物组成为河蚌肉、三七，柔肝以河蚌肉为主^[21]。为了进一步研究河蚌肉的主要成分及其主要生物学作用，课题组将河蚌肉进行有效成分的提取，其主要成分为河蚌葡聚糖 (HBP-A)，HBP-A 含药血清体外培养细胞，证实药物通过降低 β -catenin 基因的表达，从而抑制 MMP-13 炎性因子的发生，起到保护软骨、延缓其退变、以及抗炎镇痛改善 OA 相关症状^[22]。同时，课题组也证实 HBP-A 能够明显抑制因异常力学刺激引起的半月板组织损伤 (细胞死亡、多糖丢失) 及病理性过度肥大和钙化相关基因蛋白的表达^[23]。

综上所述, 本研究发现关节腔内注射 HBP-A 能够减少或延缓豚鼠膝关节软骨退变程度, 降低促软骨分解代谢因子的表达, 具有保护关节软骨的作用。

参考文献

- [1] Driban JB, Harkey MS, Barbe MF, et al. Risk factors and the natural history of accelerated knee osteoarthritis: a narrative review [J]. BMC Musculoskel Disord, 2020, 21 (1): 332.
- [2] Zhou X, Liu G, Han B, et al. Different prevention and treatment strategies for knee osteoarthritis (KOA) with various lower limb exoskeletons – a comprehensive review [J]. Robotica, 2021, 39 (8): 1345–1367.
- [3] 刘艺, 沈龙海. 骨关节炎关节软骨细胞外基质降解靶点的研究进展 [J]. 世界临床药物, 2015, 36 (5): 353–357.
- [4] Onitsuka K, Murata K, Kokubun T, et al. Effects of controlling abnormal joint movement on expression of MMP13 and TIMP-1 in osteoarthritis [J]. Cartilage, 2020, 11 (1): 98–107.
- [5] Kenji H, Koichiro O, Eriko N, et al. Dmrt2 promotes transition of endochondral ossification by linking Sox9 and Runx2 [J]. Bone Rep, 2021, 14 (Suppl): 100919.
- [6] 许肖, 刘芳, 刘绍灵. IHH 信号转导与骨关节炎患者软骨代谢的研究进展 [J]. 中国骨与关节杂志, 2020, 9 (5): 364–368.
- [7] 罗韬, 刘炆, 范伟杰. 关节软骨损伤基因治疗研究进展 [J]. 中国矫形外科杂志, 2016, 24 (8): 717–721.
- [8] 李凯明, 朱立国, 王尚全, 等. 基于网络药理学探讨黄芪-当归药对治疗膝骨关节炎的作用机制研究 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39 (5): 152–156.
- [9] 韦宋谱, 丁道芳, 王学宗, 等. 河蚌提取物葡聚糖对软骨细胞 Wnt 通路的调控作用研究 [J]. 中国骨伤, 2014, 27 (6): 461–465.
- [10] Kraus VB, Huebner JL, DeGroot J, et al. The OARSI histopathology initiative: recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the guinea pig [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2010, 18 (Suppl 3): S35–S52.
- [11] 冯萌, 邱裕生, 陈迁, 等. 骨关节炎骨软骨损伤修复的研究现状 [J]. 中国矫形外科杂志, 2016, 24 (14): 1295–1299.
- [12] 张熙南, 张君涛, 靳博. 骨关节炎软骨缺损修复的动物实验研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27 (10): 1685–1688.
- [13] 赵晋, 谢燕燕, 张立智, 等. 膝骨关节炎患者软骨和软骨下骨微结构改变 [J]. 中华实验外科杂志, 2019, 36 (7): 1313–1315.
- [14] 章海军, 黄嘉琛, 钱考亮, 等. $\alpha 7$ -nAChR 通过抑制软骨细胞凋亡延缓小鼠膝骨关节炎关节软骨退变 [J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2021, 41 (9): 1315–1321.
- [15] Lan WW, Xu MJ, Zhang XM, et al. Biomimetic polyvinyl alcohol/type II collagen hydrogels for cartilage tissue engineering [J]. J Biomater Sci, 2020, 31 (9): 1179–1198.
- [16] 刘效仿, 张健, 侯蕾, 等. 透明质酸促进关节软骨缺损修复的实验研究 [J]. 中国矫形外科杂志, 2015, 23 (24): 2271–2276.
- [17] 马崇文, 张小辉, 杨信信, 等. MMP13 在骨关节炎发病机制中的研究进展 [J]. 中国矫形外科杂志, 2019, 27 (19): 1773–1776.
- [18] 陈强, 索岩, 林楠. “杜仲-当归”介导 Wnt/ β -catenin 信号转导调控 MMP-13 表达防治关节炎的作用机制研究 [J]. 中国现代应用药学, 2021, 38 (7): 775–783.
- [19] 吴顺义, 张晓蓉. Runx2 在成骨细胞和软骨细胞分化中作用的研究进展 [J]. 医学综述, 2019, 25 (7): 1302–1307.
- [20] 王小健, 魏垒, 薛艳, 等. 乳鼠胫骨生长板前肥大区软骨细胞表达 PTHrp 对 IHH-PTHrp 信号通路的意义 [J]. 中华小儿外科杂志, 2021, 42 (4): 357–361.
- [21] 曹月龙, 王翔, 庞坚, 等. 怀珍养肝胶囊治疗膝骨关节炎的临床研究 [C]. 中华中医药学会骨伤分会. 中华中医药学会骨伤分会第四届第三次学术年会暨国家中医药管理局“十一五”重点专科(专病)建设骨伤协作组经验交流会论文汇编, 2008: 215–222.
- [22] 韦宋谱, 丁道芳, 王学宗, 等. 河蚌葡聚糖含药血清对软骨细胞 β -catenin 及 MMP-13 基因表达的影响 [J]. 上海中医药杂志, 2013, 47 (11): 76–79.
- [23] 杜国庆, 丁道芳, 冯媛媛, 等. 河蚌葡聚糖对半月板组织损伤及病理性过度肥大和钙化的影响 [J]. 南方医科大学学报, 2017, 37 (4): 431–437.

(收稿:2022-01-01 修回:2022-06-10)

(同行评议专家: 秦宏敏 李玲慧 韩学涛)

(本文编辑: 宁 桦)