

本文引用:李益亮,姚金龙,梁爽,孙绍裘.桃红四物汤对兔软骨损伤模型 noggin 蛋白表达的影响:骨伤名师孙达武学术思想与临床经验研究(四)[J].湖南中医药大学学报,2022,42(5):715-719.

桃红四物汤对兔软骨损伤模型 noggin 蛋白表达的影响

——骨伤名师孙达武学术思想与临床经验研究(四)

李益亮¹,姚金龙¹,梁爽²,孙绍裘^{1*}

(1.湖南中医药大学第二附属医院,湖南长沙410005;2.湖南中医药大学,湖南长沙410208)

[摘要] **目的** 观察桃红四物汤对兔膝关节软骨损伤模型 noggin 蛋白表达的影响,探讨桃红四物汤对兔膝关节软骨损伤修复的分子作用机制。**方法** 从40只新西兰兔中随机挑选10只为假手术组,其余新西兰兔根据改良 Hult 法进行右膝关节软骨损伤造模后,随机分为模型组、桃红四物汤组、氨基葡萄糖组,每组10只。假手术组做同样切口切至软骨面,但不予以造模而直接缝合。术后各组分别以等量蒸馏水、桃红四物汤、氨基葡萄糖进行灌胃。干预4、6周后,每组随机抽取5只新西兰兔,麻醉后进行腹主动脉采血,并循原手术切口暴露软骨,大体观察后截取包含股骨下端在内的软骨关节面,采用 ELISA 法检测 noggin 蛋白表达量;Western blot 检测软骨组织中 noggin 的蛋白表达水平,并进行数据统计分析。**结果** 干预4、6周后,桃红四物汤组 noggin 蛋白的表达均低于模型组,高于假手术组($P<0.05$);与氨基葡萄糖组比较,桃红四物汤组 noggin 蛋白的表达更低,差异有统计学意义($P<0.05$)。干预6周后,模型组、桃红四物汤组、氨基葡萄糖组关节面均不平整,但桃红四物汤组、氨基葡萄糖组软骨修复情况优于模型组。**结论** 桃红四物汤能抑制 noggin 蛋白的表达,促进膝关节软骨修复,且抑制 noggin 蛋白表达的效果较氨基葡萄糖更优。

[关键词] 软骨损伤修复;桃红四物汤;氨基葡萄糖;noggin 蛋白;新西兰兔

[中图分类号] R274.9

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.05.004

Effect of Taohong Siwu Decoction on noggin protein expression in rabbit cartilage injury model: Study on the academic thoughts and clinical experience of famous orthopaedic teacher Sun Dawu (4)

LI Yiliang¹, YAO Jinlong¹, LIANG Shuang², SUN Shaoqiu^{1*}

(1. The Second Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410005, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of Taohong Siwu Decoction on the expression of noggin protein in a rabbit knee cartilage injury model, and to explore the molecular mechanism of Taohong Siwu Decoction on the repair of knee cartilage injury in rabbits. **Methods** 10 New Zealand rabbits were randomly selected from 40 New Zealand rabbits as the sham operation group. The remaining New Zealand rabbits were randomly divided into model group, Taohong Siwu Decoction group and glucosamine group, with 10 rabbits in each group, after the right knee articular cartilage injury model was established according to the modified Hult method. In the sham operation group, the same incision was made to cut to the cartilage surface, but it was directly sutured without modeling. After operation, each group was given the same amount of distilled water, Taohong Siwu Decoction and glucosamine by gavage respectively. After 4 and 6 weeks of intervention, 5 New Zealand rabbits were randomly selected from each group. After anesthesia, abdominal aortic blood was collected, and the cartilage was exposed through the original surgical incision. After gross observation, the cartilage articular surface including the lower end of the femur was cut, ELISA was used to detect noggin protein expression; Western blot was used to detect noggin protein expression in cartilage tissue, and statistical analysis of the data was

[收稿日期] 2021-11-25

[基金项目] 湖南省科技创新计划项目(2018SK51103);湖南省中医骨伤临床医学研究中心项目(2020SK4013)。

[第一作者] 李益亮,男,硕士,主治医师,研究方向:中医药防治骨伤科疾病。

[通信作者] *孙绍裘,男,一级主任医师,二级教授,博士研究生导师,E-mail:54sunshaoqiu@163.com。

performed. **Results** After 4 and 6 weeks of intervention, the expression of noggin protein in the Taohong Siwu Decoction group was lower than that in the model group and higher than that in the sham operation group ($P<0.05$). Compared with the glucosamine group, the expression of noggin protein in the Taohong Siwu Decoction group was lower, the difference was statistically significant ($P<0.05$). After 6 weeks of intervention, the articular surfaces of the model group, Taohong Siwu Decoction group and glucosamine group were all uneven, but the cartilage repair in the Taohong Siwu Decoction group and the glucosamine group was better than that in the model group. **Conclusion** Taohong Siwu Decoction can inhibit the expression of noggin protein and promote the repair of knee articular cartilage, and the effect of inhibiting the expression of noggin protein is better than that of glucosamine.

[**Keywords**] cartilage damage repair; Taohong Siwu Decoction; glucosamine; noggin protein; New Zealand rabbit

外伤、疾病、遗传等都能导致关节软骨的损伤,且涉及各个年龄段,病程长^[1]。膝关节软骨损伤晚期往往会导致患者退行性关节炎的发生,造成患者行走困难,甚至出现夜间静息痛,严重影响患者的生活质量。由于膝关节软骨结构精密复杂,周围局部血运不佳,因此,缺损后往往出现预后不佳,甚至难以治疗的情况。目前,膝关节软骨损伤多以手术治疗为主,但是手术治疗创伤大、费用昂贵,并且容易出现伤口感染、内固定松动等并发症^[2]。中医学治疗骨病历史悠久,其优势在于无创、不良反应少、多靶点综合治疗等^[3-4]。中医学认为,软骨损伤是由于局部外伤或某种原因导致的瘀阻不通,而引起经脉、气血不畅,最终导致局部软骨营养供应缺失而造成软骨损伤和愈合困难,从而引起一系列病变^[5]。桃红四物汤是国家级名中医孙达武治疗膝关节软骨损伤的常用方剂,为治疗气滞血瘀型软骨损伤的经典方剂,具有补血活血、化瘀生新的功效^[6]。多项研究表明,桃红四物汤的活性成分,如阿魏酸、山柰酚、槲皮素、丹皮酚和咖啡酸,通过作用 TNF、IL-17、MAPK、VEGF 等信号通路,能够有效地促进软骨修复^[7-8]。noggin 信号通路与软骨修复密切相关^[9],本研究采用桃红四物汤干预新西兰兔膝关节软骨损伤模型,运用现代分子生物学检测技术,探讨桃红四物汤对 noggin 信号通路中基因蛋白表达的影响,以期阐明桃红四物汤治疗膝关节软骨损伤的分子机制,为中医药治疗膝关节软骨损伤提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物与分组

选取 40 只新西兰兔,SPF 级、10 月龄、雌雄各半,体质量(2.5 ± 0.5) kg,由湖南中医药大学动物实验中心统一购买,实验动物许可证:SCXK(湘)2020-0005,动物实验伦理审批号:LL2020061001。适应性饲养 1 周后,将 40 只新西兰兔随机挑选 10 只为假手术组,其余新西兰兔进行右膝关节软骨损伤造模

后,随机分为模型组、桃红四物汤组、氨基葡萄糖组,每组 10 只。

1.2 药物与试剂

桃红四物汤药物与剂量参照《医宗金鉴》^[10]:桃仁 20 g,川芎 10 g,当归 20 g,红花 10 g,赤芍 20 g,生地黄 20 g。中药材由湖南中医药大学第二附属医院购入并代煎,制成 4 g/mL 汤剂。桃红四物汤灌胃剂量根据人与动物体表面积换算公式,予以 4.7 g/kg 灌胃。氨基葡萄糖:选用盐酸氨基葡萄糖片(江苏正大清江制药有限公司,0.75 g \times 30 片,批号:202046852)。

1.3 主要仪器

实验仪器摇床(江苏其林贝尔有限公司,型号:TS-1);电泳仪(型号:DYY-6C)、电泳槽(型号:DY-CZ-24DN)、转膜仪(型号:DY-CZ-40D)均购于北京六一生物科技有限公司;磁力搅拌器(上海仪电科学仪器股份有限公司,型号:JB-13);电子天平(美国双杰有限公司,型号:JJ224BC);生物样品均质仪(杭州奥盛仪器有限公司,型号:BioPrep-24);台式冷冻离心机(湖南湘仪有限公司,型号:H1650R);旋涡混合器(江苏其林贝尔有限公司,型号:GL-88B)。

1.4 造模

新西兰兔禁食、禁水 6 h 后,备好手术器械,做好术前准备。每只新西兰兔称重后,抽取 1%戊巴比妥钠 0.02 mL/100 g 对其进行腹腔麻醉。麻醉满意后进行实验。将新西兰兔置于仰卧位,固定牢靠,充分显露术野。备皮、消毒后,造模组(桃红四物汤组、氨基葡萄糖组、模型组)采用改良 Hulth 法^[11]从膝关节内侧,以髌骨内侧缘为切口切开膝关节,依次切开皮肤、分离皮下筋膜,切除内侧半月板,并且离断前交叉韧带,暴露股骨内侧髌、关节腔、关节软骨。部分软骨损伤用刀片刮蹭软骨表面,以软骨表面粗糙,出现颗粒样质感为造模成功。全层软骨损伤以 4 mm 钻头在股骨内侧髌钻出一个深 3.0~4.0 mm 的创口,可隐约见松质骨,即为造模成功,清洗并逐层缝合伤口。假手术组以相同的手术入路进入关节腔,但是不

进行造模。术毕,用过氧化氢溶液、生理盐水、聚维酮碘交替冲洗关节腔,对关节囊、皮下筋膜组织严密缝合,最后缝合皮肤,术后连续3 d使用青霉素抗感染治疗。

1.5 干预方法

造模1周后,根据人与兔等效剂量换算公式^[12],桃红四物汤组每日予以4.7 g/kg灌胃,氨基葡萄糖组每日予以70 mg/kg灌胃。称取体质量的相应剂量,均予以蒸馏水稀释配制成10 mL后进行灌胃。模型组、假手术组均予以等剂量的蒸馏水进行灌胃。1次/d,连续给药4周后,各组随机选取5只新西兰兔进行实验取材,剩余新西兰兔连续灌胃6周后,进行取材。

1.6 取材

最后一次给药后第2天,使用1%戊巴比妥钠进行腹腔麻醉,处死新西兰兔。抽取兔腹主动脉血,静置离心后置于-20℃冰箱中保存;再于原手术入路切开关节囊,暴露股骨下端软骨,大体上观察软骨缺损以及修复状况以后,切取股骨下端软骨标本,置于4%多聚甲醛中固定。

1.7 指标检测

1.7.1 ELISA法检测软骨组织中noggin蛋白表达量 参照ELISA说明书,先设置各个不同浓度的标准品50 μL,并且设置空白孔和待测品孔。在待测品孔中加入40 μL稀释液,再加入10 μL待测品(5倍稀释浓度)。经加酶、温浴、配液、洗涤后加入显色剂A 50 μL、显色剂B 50 μL,摇匀,避光显色15 min(温度37℃),最后添加种植液,调零,测量光密度值。

1.7.2 Western blot检测软骨组织中noggin的蛋白表达水平 对各组样本进行培养收集,收取蛋白。用PBS缓冲液冲洗组织,加入300 μL RIPA裂解液10 min,4℃环境下,离心半径为10 cm,12 000 r/min条件下离心15 min。按BCA蛋白定量试剂盒进行操作,测量浓度,再按Western blot法制胶、电泳、转膜,放入PBST中清洗1次过夜,次日室温放置30 min。一抗(1:500)、二抗(1:5000)孵育、PBST清洗3次,每次10 min。显色、曝光:用ECL化学发光液与膜孵育1 min,滤纸吸出液体后,在成像系统中拍照,检测信号转导蛋白表达水平。

1.7.3 关节软骨组织病理观察 关节软骨标本脱钙后,将切片放置于恒温箱(60℃)烤片1~2 h,之后二甲苯浸泡,再经过顺浓度的乙醇浸泡,蒸馏水冲

洗,然后采用苏木精染色,漂洗后,再利用伊红染色。最后经过顺浓度梯度乙醇脱水、二甲苯浸泡、树胶封片,显微镜观察、拍照留样。

1.8 统计学分析

采用SPSS 23.0对实验数据进行统计分析。运用Shapiro-wilk法对数据进行正态性检测,运用Levene法进行方差检测。计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD-t检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大体观察

干预6周后,取材,对各组股骨下端的关节面进行大体观察。假手术组股骨下端关节面软骨光滑平整,全层形态紧密,结构正常。其余3组关节面均不平整,其中桃红四物汤组与氨基葡萄糖组软骨总体修复情况均明显优于模型组。

2.2 各组兔软骨损伤模型关节软骨noggin蛋白ELISA检测结果

干预4周、6周后,与假手术组比较,模型组noggin蛋白表达升高($P<0.05$);与模型组比较,桃红四物汤组、氨基葡萄糖组noggin蛋白表达均降低($P<0.05$);与氨基葡萄糖组比较,桃红四物汤组noggin蛋白表达低,差异有统计学意义($P<0.05$)。第4周与第6周同组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表1。

表1 各组兔软骨损伤模型关节软骨noggin蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	第4周	第6周
假手术组	5	3.16±0.06	3.13±0.04
模型组	5	6.97±0.21*	6.26±0.16*
桃红四物汤组	5	4.58±0.14 ^{△#}	4.03±0.12 ^{△#}
氨基葡萄糖组	5	5.22±0.16 [△]	4.86±0.18 [△]

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[△] $P<0.05$;与氨基葡萄糖组比较,[#] $P<0.05$ 。

2.3 各组兔软骨损伤模型关节软骨noggin蛋白Western blot检测结果比较

干预4周、6周后,与假手术组比较,模型组noggin蛋白表达升高($P<0.05$);与模型组比较,桃红四物汤组、氨基葡萄糖组noggin蛋白表达均降低($P<0.05$);与氨基葡萄糖组比较,桃红四物汤组noggin蛋白表达低,差异有统计学意义($P<0.05$)。第4周与第6周同组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表2、图1。

表2 各组兔软骨损伤模型关节软骨 noggin 蛋白表达水平比较

组别	n	第4周	第6周
假手术组	5	0.160±0.004	0.157±0.003
模型组	5	0.456±0.002*	0.454±0.004*
桃红四物汤组	5	0.283±0.003 ^{△#}	0.247±0.003 ^{△#}
氨基葡萄糖组	5	0.335±0.006 [△]	0.268±0.012 [△]

注:与假手术组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[△] $P<0.05$;与氨基葡萄糖组比较,[#] $P<0.05$ 。

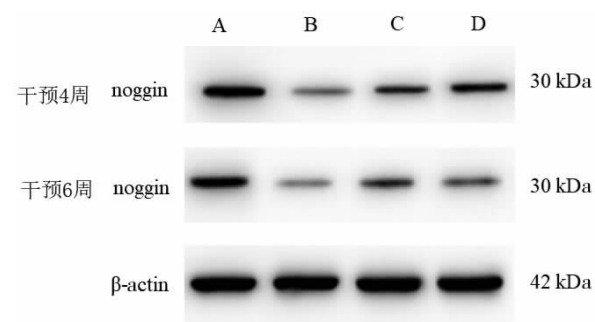


图1 干预4周、6周后,各组 noggin 蛋白印迹图

注:A.模型组;B.假手术组;C.桃红四物汤组;D.氨基葡萄糖组。

2.4 关节软骨组织 HE 染色病理观察

模型组移行区软骨细胞数量大量减少,双重潮线;桃红四物汤组关节软骨表面区不平整,高低不平,软骨基质增生,胶原纤维增生,新生血管侵犯潮线;氨基葡萄糖组关节软骨表面区不平整,高低不平,胶原纤维增生,辐射层软骨细胞减少;假手术组表面区较平滑,全层组织正常,潮线明显。详见图2。

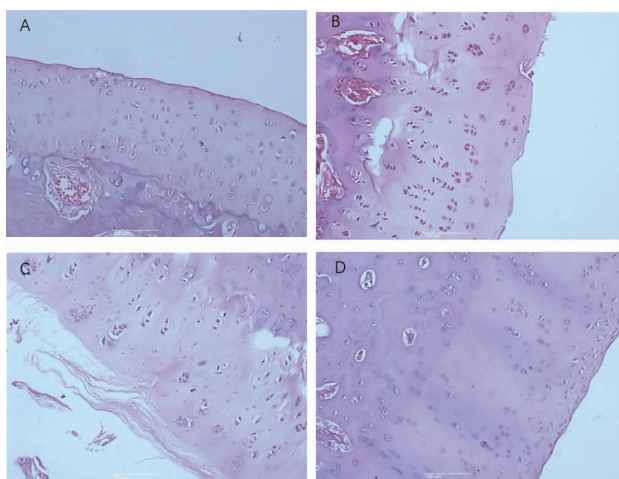


图2 干预6周后各组兔软骨损伤模型关节软骨组织 HE 染色(标尺=100 μm)

注:A.模型组;B.桃红四物汤组;C.氨基葡萄糖组;D.假手术组。

3 讨论

膝关节软骨损伤是临床上常见的疾病,常常由于外伤、遗传、疾病等多种因素造成。疾病发展后期常常出现膝关节骨性关节炎,临床上患者常有膝关节

畸形、肿胀、行走障碍,甚至出现夜间的静息疼痛等症状,严重影响患者生活质量^[13]。据流行病学统计,全球大约有3亿人患有膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA),女性发病率常常高于男性^[14]。而我国55岁以上人群中,约60%的人具有KOA的影像学表现,65岁以上的人群中KOA的发病率达85%^[15]。目前,治疗膝关节软骨损伤的方法有多种,包括手术治疗、药物治疗、物理治疗、肌肉贴等,但是难以改变软骨损伤后关节退变的发展进程。而中医学在相关领域具有独特的优势^[16-17],具有无创、不良反应少、多靶点综合治疗的特点。

膝关节软骨损伤归属于中医学“骨痹”的范畴。王清任有关于“痹有瘀血”的论点,他主张运用活血化瘀法随证治之。《医林改错·卷下》云:“总滋阴外受之邪归于何处?总逐风寒去湿热,已凝之血,更不能活。如水遇风寒,凝结成冰,冰成,风寒已散,明此义,治痹证何难。”说明该病是由多种因素而引起的经络阻滞、气血不畅、筋脉挛急,病程久则损及各个脏腑,因此,瘀血是骨痹形成的重要病机。桃红四物汤是活血化瘀的名方,方名始于吴谦所著的《医宗金鉴·妇科心法要诀》,常用于血虚证或血瘀证,最开始用于妇科血证,为妇科病的首选方^[18-19]。孙达武教授依据“有是证用是方”的理论,临床上灵活化裁运用桃红四物汤,有补血养血、活血化瘀之效,可以有效治疗膝关节软骨损伤。

骨形态发生蛋白质(bone morphogenetic protein, BMP)是非常重要的骨蛋白。研究发现,BMP信号通路能与骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)结合,MSCs没有参加分化但却具有成骨性能,从而使得MSCs发生化生反应、趋向、聚集、分化,最终变成软骨或骨^[20]。noggin是一种分泌型同二聚体糖蛋白,已被证明通过结合BMP-2、BMP-4、BMP-7、BMP-5、BMP-6、生长和分化因子-5、生长和分化因子-6^[21-22]来抑制BMP信号传导。当体内noggin高表达时,会与BMP特异性结合,从而使BMP和受体结合受阻,降低活性,抑制成骨,noggin可以抑制成骨细胞分化及其功能^[23-24],noggin与BMP蛋白最易产生反应的拮抗剂,通过阻止骨BMP与受体结合,来降低骨形成率。本课题组前期实验发现,桃红四物汤能抑制BMP-2蛋白表达,减少软骨的炎症反应,从而加快软骨愈合的过程^[22]。

有文献证明,氨基葡萄糖对于软骨损伤具有一定的修复作用^[25-26],所以本课题组以氨基葡萄糖作

为软骨修复的阳性对照药,以桃红四物汤作为干预用药,以免膝关节软骨损伤模型作为研究对象,结果表明:干预4周、6周后,与假手术组比较,模型组 noggin 蛋白表达升高 ($P<0.05$);与模型组比较,桃红四物汤组、氨基葡萄糖组 noggin 蛋白表达均降低 ($P<0.05$);与氨基葡萄糖组比较,桃红四物汤组 noggin 蛋白表达低,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。桃红四物汤能抑制 noggin 蛋白的表达,从而有利于膝关节软骨修复,且抑制 noggin 蛋白表达的效果较氨基葡萄糖更优。该实验是关于桃红四物汤促进软骨新生、防治 KOA 的基础性研究,对桃红四物汤化瘀与生新的作用以及中药机制等方面的探讨均具有重要意义,但是由于本实验组别数量设置有限,对于桃红四物汤促进软骨新生的最佳实验剂量,还需要进一步设置不同浓度的桃红四物汤组别进行干预,有待进一步探讨。

参考文献

- [1] GREENE G W, ZAPPONE B, ZHAO B X, et al. Changes in pore morphology and fluid transport in compressed articular cartilage and the implications for joint lubrication[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(33): 4455-4462.
- [2] 马 丁,师东良,李 姣,等.关节软骨损伤再生修复研究进展[J]. *生命科学*,2021,33(11):1353-1362.
- [3] 余 毅,张 婷,熊逸啸,等.活血化瘀法对膝骨性关节炎模型兔基质金属蛋白酶的影响[J].*湖南中医药大学学报*,2021,41(7):998-1002.
- [4] 杨 卓,邱振南,余晓愉,等.桃红四物汤组方药物主要有效单体成分伍对早期骨折愈合的影响[J].*湖南中医药大学学报*,2020,40(12):1462-1467.
- [5] 胡晓飞,刘玲玲,甄志铭,等.大学生长途徒步拉练对膝关节急性损伤及软骨亚区影响的 MRI 定量分析[J].*中华医学杂志*,2022,102(9):659-665.
- [6] 杨艳玲,李花花,黄嘉怡,等.基于质量源于设计(QbD)理念的经典名方桃红四物汤的提取工艺研究[J].*中草药*,2022,53(2):403-412.
- [7] 王馨苑,黄夏冰,李 娟,等.桃红四物汤“异病同治”类风湿性关节炎和骨关节炎的网络药理学及分子对接分析[J].*中国组织工程研究*,2022,26(15):2419-2425.
- [8] 周文佳.基于 Hippo 信号通路探讨桃红四物汤对 BMSCs 增殖、成骨分化的影响[D].长沙:湖南中医药大学.
- [9] ZHOU J, JIN X M, LIU Y, et al. Jumonji domain containing-3 (JMJD3) inhibition attenuates IL-1 β -induced chondrocytes damage in vitro and protects osteoarthritis cartilage in vivo[J]. *Inflammation Research*, 2020, 69(7): 657-666.
- [10] 吴 谦.医宗金鉴:上[M].北京:人民卫生出版社,2006:13.
- [11] 邹承达,陈星光,宿广昊,等.富血小板纤维蛋白修复陈旧性负重位创伤性膝关节炎模型兔的软骨缺损[J].*中国组织工程研究*, 2019,23(3):409-415.
- [12] 邝高艳,严 可,柴 爽,等.加味独活寄生合剂治疗膝骨关节炎临床疗效及对关节液中 IL-1,IL-6,TNF- α 及 NO 的影响[J].*中国实验方剂学杂志*,2017,23(1):174-178.
- [13] 张潇斌,马玉宁,颜 晓,等.基于数据挖掘探讨中药热熨治疗膝骨关节炎用药规律及其毒性中药的应用[J].*中草药*,2022,53(5): 1483-1493.
- [14] KLOPPENBURG M, BERENBAUM F. Osteoarthritis year in review 2019: Epidemiology and therapy[J]. *Osteoarthritis and Cartilage*, 2020, 28(3): 242-248.
- [15] 张宇飞,张高魁,郝阳泉,等.长安郭氏骨伤学术流派经方三花膏联合塞来昔布治疗早期寒湿痹阻型膝骨关节炎的临床研究[J].*时珍国医国药*,2022,33(1):157-159.
- [16] 吴 迪,司丽娜,罗金伟,等.长链非编码核糖核酸长基因非编码核糖核酸-p53 诱导转录本对膝骨关节炎软骨细胞增殖、凋亡及炎症因子分泌的影响及其机制[J].*中华实验外科杂志*,2022,39(2): 325-328.
- [17] 杨 威,袁普卫,费 洋,等.膝骨关节炎血清微小核糖核酸表达谱特征及分析[J].*中华实验外科杂志*,2022,39(2):335.
- [18] 杨艳玲,刘彩凤,黄嘉怡,等.经典名方桃红四物汤的古今文献分析[J].*中国实验方剂学杂志*,2021,27(13):10-20.
- [19] 卢启贵,谢平金,罗 臻,等.microRNA-20b-5p 对早期膝骨关节炎模型大鼠软骨和软骨下骨血管新生的影响[J].*中国组织工程研究*,2022,26(29):4658-4665.
- [20] LE Q A, MADHU V, HART J M, et al. Current evidence on potential of adipose derived stem cells to enhance bone regeneration and future projection[J]. *World Journal of Stem Cells*, 2021, 13(9): 1248-1277.
- [21] KHATTAB H M, KUBOTA S, TAKIGAWA M, et al. The BMP-2 mutant L51P: A BMP receptor IA binding-deficient inhibitor of noggin[J]. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 2019, 37(2): 199-205.
- [22] 徐英杰,尹羽薇,赵海燕,等.中药贴膜对兔膝骨性关节炎关节软骨下骨 BMP-2 蛋白表达的影响[J].*中医药学报*,2021,49(10):32-35.
- [23] TAVAKOL S, MUSAVI S M M, TAVAKOL B, et al. Erratum to: Noggin along with a self-assembling peptide nanofiber containing long motif of laminin induces tyrosine hydroxylase gene expression[J]. *Molecular Neurobiology*, 2017, 54(6): 4617.
- [24] COSTAMAGNA D, MOMMAERTS H, SAMPAOLESI M, et al. Noggin inactivation affects the number and differentiation potential of muscle progenitor cells in vivo[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 31949.
- [25] 李 宇.补肾壮筋汤与盐酸氨基葡萄糖联合应用对大鼠膝软骨损伤修复价值的初步研究[D].沈阳:辽宁中医药大学,2019.
- [26] 张铭华,张施洋,赵增辉,等.盐酸氨基葡萄糖对关节内出血引起的软骨损伤修复作用研究[J].*中国修复重建外科杂志*,2016,30(5): 562-568.

(未完待续)

(本文编辑 贺慧斌)