doi:10.11659/jjssx.07E020071

·基础研究·

HSYA 对骨关节炎大鼠膝关节软骨损伤的修复作用研究

李燕霞,王 琳,姚弘毅 (华中科技大学同济医学院附属梨园医院康复科,湖北 武汉 430000)

[摘 要] **目的** 探讨羟基红花黄色素 A(HSYA)对骨关节炎(OA)大鼠膝关节及 MMP-3、TGF-β1、Notch1 的影响。**方法** 将 25 只大鼠随机分为正常组(假手术)、OA 组(模型大鼠)、低 HSYA 组(模型大鼠尾部注射 2.5 mg/kg HSYA)、中 HSYA 组(模型大鼠尾部注射 5.0 mg/kg HSYA)、高 HSYA 组(模型大鼠尾部注射 10.0 mg/kg HSYA)。采用 ELISA 检测血清指标 IL-1β、TNF-α,Pelletier 评分评估膝关节软骨损伤情况,HE 染色观察组织病理形态并以 Mankin 评分进行评估,免疫组化检测 MMP-3 阳性表达,Western blot 检测 TGF-β1、Notch1 蛋白水平。**结果** OA 组血清中 IL-1β、TNF-α 水平高于其余各组($P<0.05$),高 HSYA 组 IL-1β、TNF-α 水平低于低 HSYA 组和中 HSYA 组($P<0.05$)。各组大鼠 Pelletier 评分组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。OA 组软骨和滑膜组织 Mankin 评分高于其余各组($P<0.05$),高 HSYA 组 Mankin 评分低于低 HSYA 组、中 HSYA 组($P<0.05$)。各组大鼠关节组织 MMP-3 阳性细胞率组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。各组大鼠关节组织 TGF-β1、Notch1 蛋白水平组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** HSYA 能够降低 OA 大鼠血清炎性因子 IL-1β、TNF-α 水平,缓解滑膜组织损伤,且存在浓度依赖性,其机制与抑制 MMP-3 和 Notch1 表达、提高 TGF-β1 水平相关。

[关键词] 骨关节炎;羟基红花黄色素 A;软骨修复;大鼠模型;MMP-3;TGF-β1;Notch1

[中图分类号] R392.3 [文献标识码] A [收稿日期] 2020-07-15

Study on the repair effect of HSYA on knee cartilage injury in rats with osteoarthritis

LI Yan-xia, WANG Lin, YAO Hong-yi (Department of Rehabilitation, Liyuan Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei 430000, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of hydroxy safflower yellow A (HSYA) on knee joints and MMP-3, TGF-β1 and Notch1 in osteoarthritis (OA) rats. **Methods** A total of 25 rats were randomly divided into the normal group (sham operation), the OA group (model rats), the low HSYA group (model rats with tail injection of 2.5 mg/kg HSYA), the medium HSYA group (model rats with tail injection of 5.0 mg/kg HSYA) and the high HSYA group (model rats with tail injection of 10.0 mg/kg HSYA). Serum indicators of IL-1β and TNF-α were detected by ELISA and the articular cartilage injury was evaluated by Pelletier score. Tissue pathomorphology was observed by HE staining and evaluated by Mankin score. MMP-3 positive expression was measured by immunohistochemical method. The protein levels of TGF-β1 and Notch1 were detected by Western blot. **Results** The levels of serum IL-1β and TNF-α in the OA group were higher than those in other groups ($P<0.05$). The levels of serum IL-1β and TNF-α in the high HSYA group were lower than those in the low HSYA group and the medium HSYA group ($P<0.05$). There were statistically significant differences in Pelletier scores of rats among all groups ($P<0.05$). Mankin score of cartilage and synovial tissue in the OA group was higher than that in other groups ($P<0.05$), and Mankin score in the high HSYA group was lower than that in the low HSYA group and the medium HSYA group ($P<0.05$). There were statistically significant differences in MMP-3 positive expression of the rat joint tissues among all groups. There were statistically significant differences in the protein levels of TGF-β1 and Notch1 of the joint tissues among all groups ($P<0.05$). **Conclusion** HSYA can reduce the level of serum inflammatory factors of IL-1β and TNF-α in OA rats and alleviate the injury of synovial tissues in a concentration dependent manner, which is related to inhibiting the expression of MMP-3 and Notch1 and increasing the level of TGF-β1.

Keywords: osteoarthritis; hydroxy safflower yellow A; cartilage repair; rat model; MMP-3; TGF-β1; Notch1

关节是骨与骨连接的部分,软骨可以减少骨摩擦,随着年龄的增加,累积性运动损伤等炎症反应会加重膝关节软骨损伤,导致骨关节炎(osteoarthritis, OA)产生[1]。有研究表明,中老年人群均会出现不同程度的骨关节疾病,其中 OA 的发生率约为 4%,与老龄化程度呈正相关[2]。OA 患者关节疼痛及肿胀等与关节周边肌肉控制能力不足、柔韧功能减退等有关。目前,随着医疗技术的不断进步,探讨 OA 的发病机制及防治方案已经成为学术界研究的热点。

羟基红花黄色素 A(hydroxy safflower yellow A, HSYA)是从红花中提取的活性制剂,具备红花的药理

[基金项目] 华中科技大学自主创新研究基金项目(2018KFYYXJJ106);湖北省卫生计生委中医药科研项目(ZY2019F039)

[通信作者] 王 琳,E-mail:545281439@qq.com

活性。以往研究表明,HSYA 同时对心肌缺血和缺血脑组织等有保护作用[3]。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase,MMP)是由钙离子及锌离子组成的大家族,以降解细胞外间质而被熟知,在 OA 等多种病理生理中发挥作用,其中 MMP-3 是该家族的重要成员。转化生长因子-β1(transforming growth factor β1,TGF-β1)属于多功能蛋白质,对细胞生物活性及机体免疫具有调节作用[4]。Notch 信号广泛存在于成骨细胞和软骨细胞中,间充质干细胞向成骨细胞分化的过程主要受 Notch1 信号通路的影响,因此,Notch1 信号在骨生长中起重要作用。目前,有研究证实 HSYA 能一定程度上促进 OA 修复,但其作用机制尚不明确,因此,为了探究 HSYA 对 OA 大鼠血清中炎性因子的影响及其作用机制,本研究通过建立 OA 大鼠模型,以分析 HSYA 对大鼠膝关节及 MMP-3、TGF-β1、Notch1 水平的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

25 只 SPF 级 SD 大鼠(中国上海基尔顿生物),MMP-3 抗体(USA,Abcam),TGF-β1 抗体(中国上海沪峥生物),Notch1 抗体(中国上海士峰生物),生化实验电泳蛋白仪(中国上海知信),苏木精—伊红试剂盒(中国上海江莱)。

1.2 HSYA 溶液配制

HSYA(中国上海源叶生物科技,批号:Z01010BA13,质量分数≥98%)配制成 100 mg/mL,用无血清 DMEM/F12(25 mL)培养液溶解,储存浓度为 1.28 mM,0.22 μm 滤膜过滤除菌后于 4 ℃保存备用。用含 10% FBS 的 DMEM/F12 倍比稀释成为所需终浓度的培养液。

1.3 分组及 OA 大鼠建模

将 25 只大鼠随机分为正常组、OA 组、低 HSYA 组、中 HSYA 组和高 HSYA 组,每组 5 只。所有大鼠适应性饲养 3 d,随后 OA 组、低 HSYA 组、中 HSYA 组和高 HSYA 组大鼠依据文献[5]建立 OA 大鼠模型,即在大鼠右侧膝关节注射 4% 木瓜蛋白酶溶液与 0.03 mol/L L-半胱氨酸溶液混合液 20 μL,7 d 后 OA 模型建立成功。低 HSYA 组、中 HSYA 组和高 HSYA 组大鼠分别在尾部注射浓度为 2.5、5.0、10.0 mg/kg 的 HSYA,HSYA 浓度参考文献[6],OA 组和正常组大鼠分别注射 100 mg/kg 生理盐水,每周 1 次,共 5 次。

1.4 ELISA 检测血清中 IL-1β 和 TNF-α 含量

末次尾部注射后,抽取每组大鼠尾静脉血,4 000 r/min离心,取上清液置入 EP 管中,低温保存备用。采用 ELISA 酶法在全自动生化仪器上测定患者 IL-1β 和 TNF-α 表达水平。顺序加入 HRP 标记的 CEA,结合成抗体后,多次洗涤,TMB 显色,呈现蓝色,在酸的作用下,最终呈现黄色,于 450 nm 波长下的酶标仪检测 OD 值,实验过程严格按操作说明书实验步骤进行。

1.5 Pelletier 评分评估大鼠膝关节软骨损伤

末次注射及尾部采血结束后,大鼠行颈部脱臼法安乐死,取右侧后肢膝关节标本,观察股骨髁和胫骨平台关节面平整度,采用 Pelletier 评分评估膝关节关节面软骨损伤,分数越高表示软骨损伤越严重[6]。

1.6 大鼠组织病理形态观察及 Mankin 评分

取各组大鼠股骨内髁关节面,甲醛固定 24 h,经脱钙、常规脱水机切片处理后进行 HE 染色[7],200 倍倒置显微镜下观察病理情况。采用 Mankin 评分对每组大鼠软骨和滑膜组织进行评估,分数越高表示损伤越严重。

1.7 免疫组化检测 MMP-3 阳性表达

各组大鼠膝关节组织脱水、包埋后,采用甲醛固定,水化后 37.5 ℃静置 0.5 h,加入 1% 乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid,EDTA)液,山羊血清封闭。加入 1 抗(1∶500)、MMP-3 抗体,加入二抗 0.5 h 后,复染,封皮。选择不交叉的 10 个视野,以淡黄色至棕褐色为阳性,计算阳性率。

1.8 Western blot 检测 TGF-β1、Notch1 的蛋白水平

各组大鼠膝关节组织加入裂解液,于 4 ℃离心 0.5 h。用 PIERCE 检测总蛋白浓度。SDS-PAGE 电泳并转膜至 PVDF 膜,随后加入 TGF-β1、Notch1 和 GAPDH 抗体,于 4 ℃一抗孵育 24 h,PBS 洗涤后进行辣根过氧化物酶共轭二抗处理 1 h,冷却后计算 TGF-β1、Notch1 蛋白水平,用 Nuance 分析软件进行数据处理,化学发光试剂显影曝光,拍照保存。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计学分析,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠血清中 IL-1β、TNF-α 水平比较

OA 组血清中 IL-1β、TNF-α 水平均高于其余各组($P<0.05$),高 HSYA 组 IL-1β、TNF-α 水平低于低 HSYA 组及中 HSYA 组($P<0.05$),见表 1。

表 1 大鼠血清中相关因子水平比较($\bar{x}\pm s$,$n=5$,pg/mL)

组别	IL-1β	TNF-α
正常组	11.09±3.70	32.08±5.57
OA 组	55.39±7.29*	67.03±7.79*
低 HSYA 组	36.47±6.55*#	43.53±6.21*#
中 HSYA 组	31.33±6.50*#Δ	40.22±5.34*#Δ
高 HSYA 组	28.60±5.44*#Δ▲	33.66±5.10*#Δ▲
F	34.920	50.080
P	0.000	0.000

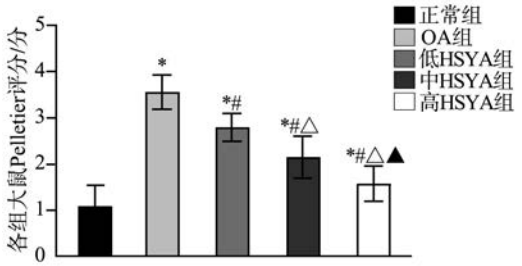
*:与正常组相比,$P<0.05$;#:与 OA 组相比,$P<0.05$;Δ:与低 HSYA 组相比,$P<0.05$;▲:与中 HSYA 组相比,$P<0.05$

2.2 大鼠 Pelletier 评分比较

OA 组、低 HSYA 组、中 HSYA 组、高 HSYA 组及正常组大鼠 Pelletier 评分依次降低,各组间比较差异有统计学意义($F=30.770$,$P<0.05$),见图 1。

2.3 大鼠组织病理学观察及 Mankin 评分比较

病理观察结果显示:正常组软骨结构清晰、完整,组织间隙无水肿及炎症浸润;OA组软骨结构混乱且不完整,组织间隙严重肥大,炎症浸润显著;低 HSYA 组、中 HSYA 组、高 HSYA 组关节软骨排列较整齐,少量炎症浸润,与 OA 组相比均有一定改善,见图 2。OA 组软骨和滑膜组织 Mankin 评分高于其余各组($P<0.05$),高 HSYA 组 Mankin 评分低于低 HSYA 组和中 HSYA 组($P<0.05$),见表 2。



*:与正常组相比,$P<0.05$;#:与 OA 组相比,$P<0.05$;△:与低 HSYA 组相比,$P<0.05$;▲:与中 HSYA 组相比,$P<0.05$

图 1 大鼠 Pelletier 评分比较

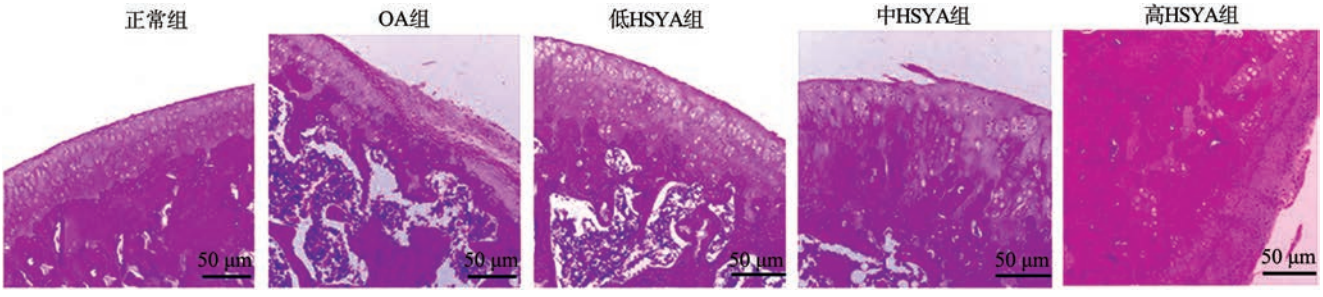


图 2 大鼠组织病理学观察

表 2 大鼠软骨和滑膜组织 Mankin 评分比较($\bar{x}\pm s$,$n=5$,分)

组别	软骨	滑膜组织
正常组	0.25±0.35	0.43±0.26
OA 组	10.60±1.33*	17.40±1.20*
低 HSYA 组	8.70±0.88*#	11.76±1.03*#
中 HSYA 组	6.46±0.75*#Δ	9.73±1.17*#Δ
高 HSYA 组	4.83±0.60*#Δ▲	6.50±0.64*#Δ▲
F	109.600	227.600
P	0.000	0.000

*:与正常组相比,$P<0.05$;#:与 OA 组相比,$P<0.05$;Δ:与低 HSYA 组相比,$P<0.05$;▲:与中 HSYA 组相比,$P<0.05$

2.4 大鼠膝关节组织 MMP-3 阳性细胞率比较

MMP-3 在膝关节组织阳性表达呈现棕黄色,OA 组 MMP-3 在细胞浆中阳性表达明显,主要在炎性肉芽肿内的组织细胞及少量的血管内皮细胞中表达(图 3)。低 HSYA 组、中 HSYA 组、高 HSYA 组中 MMP-3 阳性表达逐渐减少,炎症浸润降低。OA 组、低 HSYA 组、中 HSYA 组、高 HSYA 组、正常组大鼠关节组织 MMP-3 阳性细胞率依次降低,各组间比较差异有统计学意义($F=240.200$,$P<0.05$),见图 4。

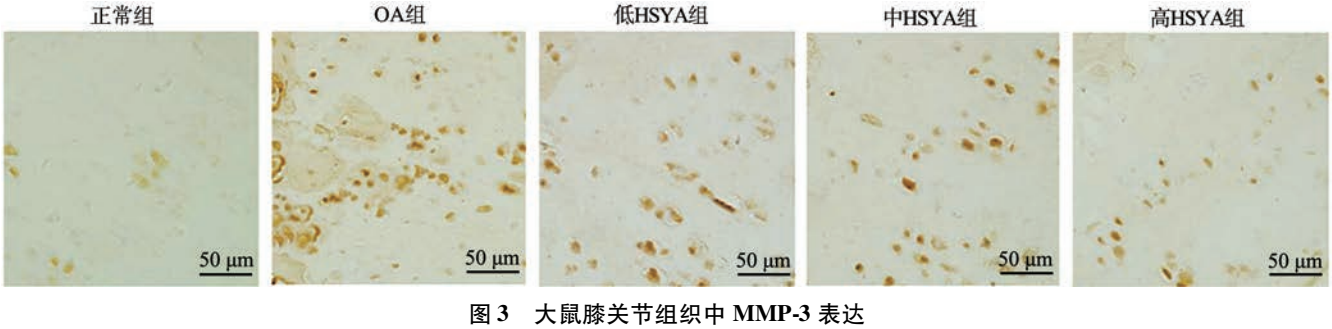
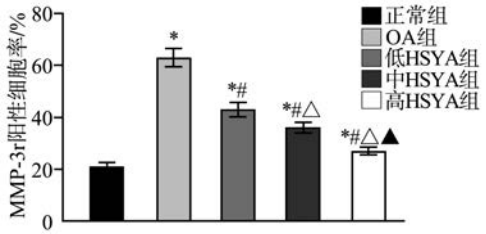


图 3 大鼠膝关节组织中 MMP-3 表达

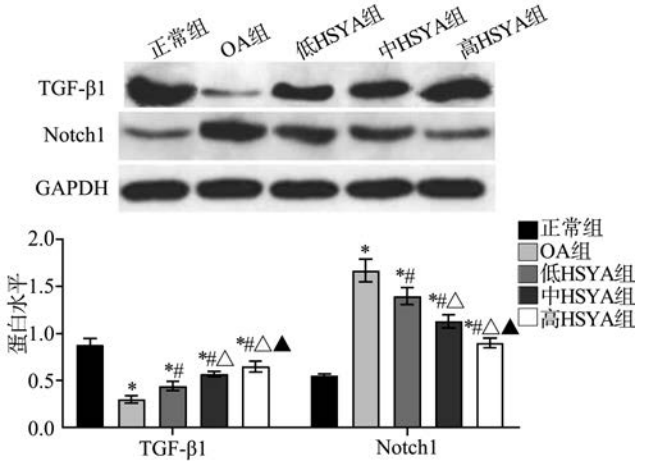


*:与正常组相比,$P<0.05$;#:与 OA 组相比,$P<0.05$;△:与低 HSYA 组相比,$P<0.05$;▲:与中 HSYA 组相比,$P<0.05$

图 4 大鼠膝关节组织中 MMP-3 阳性细胞率比较

2.5 大鼠 TGF-β1、Notch1 蛋白水平比较

正常组大鼠膝关节组织 TGF-β1 蛋白水平高于 OA 组、低 HSYA 组、中 HSYA 组、高 HSYA 组($P<0.05$),低 HSYA 组、中 HSYA 组、高 HSYA 组 TGF-β1 蛋白水平较 OA 组高($F=112.400$,$P<0.05$);正常组大鼠膝关节组织 Notch1 蛋白水平低于 OA 组、低 HSYA 组、中 HSYA 组、高 HSYA 组($P<0.05$),低 HSYA 组、中 HSYA 组、高 HSYA 组 Notch1 蛋白水平较 OA 组低($F=68.680$,$P<0.05$),见图 5。



*:与正常组比较,$P<0.05$;#:与 OA 组比较,$P<0.05$;Δ:与低 HSYA 组比较,$P<0.05$;▲:与中 HSYA 组相比,$P<0.05$

图 5 大鼠 TGF-β1、Notch1 蛋白表达

3 讨论

研究表明,OA 患者骨关节受到损伤时,会导致骨关节液的吸收和释放功能紊乱,软骨组织内营养供给不足,软骨中的有害物质不能及时排除,进而使软骨损伤不断加剧[6]。目前,OA 的临床治疗存在多样性,其中中药的生物活性在多种疾病中均发挥重要作用。红花的药理活性广泛,HSYA 是从红花中提取的活性物质,具有抗血小板聚集、抗自由基及抗炎等特点。

IL-1β 经多种细胞刺激后产生,其表达水平与 OA 的严重程度呈正相关,IL-1β 会导致 OA 患者关节软骨炎症加重。前列腺素 E2 属于疼痛因子,其表达升高表示机体疼痛程度增加。TNF-α 可促使机体血清中炎症介质白介素-6 水平升高,导致软骨分泌的前列腺素 E2 升高,增加软骨破坏性[8]。HSYA 是由多个酚羟基组成的化合物,具有活血、抗炎及止痛作用,能够有效调节炎症 NF-κB 信号,降低自由基水平,改善炎症浸润[9]。Wang 等[10]研究表明,HSYA 能够降低 OA 患者血清中 IL-1β、TNF-α 水平,有利于减少关节软骨退变。本研究结果显示,HSYA 能够降低 OA 大鼠血清中 IL-1β、TNF-α 水平,且呈剂量依赖性,说明高剂量 HSYA 具有较强的抑制 IL-1β 和 TNF-α 因子的能力,这与牛凯等[11]的研究结果相似。

本研究对 OA 大鼠注射不同剂量 HSYA 后发现,Pelletier 评分均降低,且剂量越高评分越低,提示不同剂量的 HSYA 对 OA 大鼠关节软骨及组织病理均有改善作用,且呈浓度依赖性。注射 HSYA 后能加快骨增生,减少软骨层缺损。顾超兰等[12]的研究表明,HSYA 能够降低 IL-1β 水平,从而保护关节软骨组织,减少关节退变发生,本研究结果与之相似。

研究表明,MMP 是导致 OA 发生病理改变的关键,其作用机制是加深 OA 患者胶原网破坏程度,增加软骨暴露及炎症因子刺激,促进Ⅱ型胶原蛋白降解,从而加重病情[13]。有研究认为,HSYA 能够通过提高Ⅱ型胶原蛋白水平,抑制 MMP-3 表达,平衡软骨细胞代谢,从而减少软骨降解,保护骨组织[14]。本研究结果表明,HSYA 能够降低膝关节组织中 MMP-3 阳性表达,且呈浓度依赖性,与王君等[15]的研究结果相似。

Notch 是一种进化上高度保守的信号通路,能够通过调节相邻细胞而影响器官发育。有研究表示,Notch1 在 OA 大鼠关节软骨中水平较高,可影响软骨的发育和生长,导致骨细胞平衡紊乱[16]。TGF-β1 是调节细胞生长和分化的 β 超家族,其信号传导作用需要结合 Smad 完成。TGF-β1 水平升高往往与自身免疫等有关[17]。TGF-β1 在正常人群中表达相对稳定,而在 OA 患者体内表达异常,这与关节损伤后软骨启动自我修复相关[18]。本研究结果显示,HSYA 能够降低 Notch1 表达水平,减少炎症反应,同时,HSYA 能通过提高 TGF-β1 水平从而加快软骨细胞分化,提高软骨修复能力,这与国内外的研究结果相似[19-20],但具体机制还需要进一步研究。

综上所述,OA 大鼠尾部注射 HSYA 能够降低血清炎性因子 IL-1β、TNF-α 水平,缓解滑膜组织损伤,且呈浓度依赖性,其作用机制与抑制 MMP-3、Notch1 表达,提高 TGF-β1 水平相关。

[参考文献]

[1] 向 珊,张继荣.温针灸阳陵泉联合等速肌力训练治疗膝关节骨性关节炎的疗效观察[J].中国中西医结合杂志,2018,38(6):655-657. doi:10.7661/j.cjim.20180119.091.

[2] Pozzobon D, Ferreira PH, Blyth FM, et al. Can obesity and physical activity predict outcomes of elective knee or hip surgery due to osteoarthritis? A meta-analysis of cohort studies[J]. BMJ Open,2018,8(2):e017689. doi:10.1136/bmjopen-2017-017689.

[3] 付龙生,吕燕妮,徐 彭.羟基红花黄色素A调控Wnt/β-catenin通路保护脑缺血小鼠血脑屏障的机制研究[J].国际中医中药杂志,2018,40(3):226-230. doi:10.3760/cma.j.issn.1673-4246.2018.03.009.

[4] 董永辉,李 昂,代志鹏,等.小鼠骨关节炎早期软骨下骨结构改变的实验研究[J].中华骨科杂志,2019,39(22):1392-1398. doi:10.3760/cma.j.issn.0253-2352.2019.22.005.

[5] Kardeş S, Karagülle M, Geçmen İ, et al. Outpatient balneological treatment of osteoarthritis in older persons: a retrospective study[J]. Z Gerontol Geriatr,2019,52(2):164-171. doi:10.1007/s00391-018-1370-3.

[6] Desai M, Bentley A, Keck WA, et al. Cooled radiofrequency ablation of the genicular nerves for chronic pain due to osteoarthritis of the knee: a cost-effectiveness analysis based on trial data[J]. BMC Musculoskelet Disord,2019,20(1):302. doi:10.1186/s12891-019-2681-2.

[7] 刘传文,赵 蕾,滕学仁.金天格胶囊对膝骨关节炎患者关节液中MMP-3、TIMP-1、IL-1β、TGF-β1水平的影响[J].中国骨质疏松杂志,2015,21(4):442-446. doi:10.3969/j.issn.1006-7108.2015.04.013.

[8] 傅照华,赵娇娇,曹青青,等.射频热疗对膝骨关节炎实验兔血液中白细胞介素-1β及肿瘤坏死因子-α表达的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2018,40(7):481-485. doi:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2018.07.001.

[9] 朱振洪,黄小飞,王 玉,等.丹红注射液与羟基红花黄色素A对大鼠脑缺血再灌注后IL-1β、TNF-α和Caspase-3 mRNA表达的影响[J].中华中医药杂志,2016,31(4):1390-1393.

[10] Wang T, Ding YX, He J, et al. Hydroxysafflor yellow a attenuates lipopolysaccharide-induced neurotoxicity and neuroinflammation in primary mesencephalic cultures[J]. Molecules,2018,23(5):1210-1212. doi:10.3390/molecules23051210.

[11] 牛 凯,赵永见,张 雷,等.苦杏仁苷联合羟基红花黄色素A对IL-1β诱导的大鼠椎间盘软骨终板细胞的影响[J].药学学报,2014,9(8):1136-1142.

[12] 顾超兰,周 杰.红花黄色素对佐剂型关节炎大鼠的抗炎作用研究[J].中国现代应用药学,2017,34(4):521-523. doi:10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.04.009.

[13] 翟天航,张 洁,李会丹.类风湿性关节炎患者滑膜组织中HIF-1α与MMP-3相关性研究[J].上海交通大学学报(医学版),2015,35(9):1248-1251. doi:10.3969/j.issn.1674-8115.2015.09.002.

[14] Yang ZM, Tang YX, Zhao Q, et al. Down-regulation of microRNA-23b aggravates LPS-induced inflammatory injury in chondrogenic ATDC5 cells by targeting PDCD4[J]. Iran J Basic Med Sci,2018,21(5):529-535. doi:10.22038/IJBMS.2018.25856.6364.

[15] 王 君,罗秋燕,边文玲,等.红花注射液保存人胎羊膜对大鼠皮肤切创愈合中MMP-2,MMP-9影响的研究[J].中国医学创新,2013,10(18):1-3. doi:10.3969/j.issn.1674-4985.2013.18.001.

[16] Liu Z, Ren Y, Mirando AJ, et al. Notch signaling in postnatal joint chondrocytes, but not subchondral osteoblasts, is required for articular cartilage and joint maintenance[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2016, 24(4):740-751. doi:10.1016/j.joca.2015.10.015.

[17] 卢 贺,顾一帆,史建伟,等.鹿茸对骨关节炎大鼠cAMP/cGMP及TGF-β的影响与归经相关性研究[J].中华中医药学刊,2018,36(5):1147-1150. doi:10.13193/j.issn.1673-7717.2018.05.031.

[18] Wang PE, Zhang L, Ying J, et al. Bushenhuoxue formula attenuates cartilage degeneration in an osteoarthritic mouse model through TGF-β/MMP13 signaling[J]. J Transl Med,2018,16(1):72. doi:10.1186/s12967-018-1437-3.

[19] Mohammadi F, Samani SM, Tanideh N, et al. Hybrid scaffolds of hyaluronic acid and collagen loaded with prednisolone: an interesting system for osteoarthritis[J]. Adv Pharm Bull,2018,8(1):11-19. doi:10.15171/apb.2018.002.

[20] 张亚丹,潘瑞艳,臧宝霞,等.羟基红花黄色素A抑制转化生长因子-β1诱导的与肺纤维化相关信号通路的机制研究[J].心肺血管病杂志,2016,35(2):145-149. doi:10.3969/j.issn.1007-5062.2016.02.018.

(编辑:龙小芬)