

· 基础研究 ·

补肾活血方对大鼠膝骨关节炎滑膜细胞 β -catenin、MMP-7 的影响

袁琴¹, 阚卫兵¹, 宋朋飞¹, 赵婧¹, 于为国¹, 王拥军²

(1. 上海中医药大学附属普陀医院伤骨科, 上海 200062; 2. 上海中医药大学脊柱病研究所, 上海 200032)

【摘要】 目的:观察 Wnt 经典信号通路中 β -catenin 在大鼠膝骨关节炎滑膜细胞胞核中的表达, 并观察补肾活血方对大鼠膝骨关节炎(OA)膝关节滑膜细胞胞核中 β -catenin 和滑膜细胞 MMP-7 的调控作用。**方法:**采用 Hulth 法建立大鼠膝骨关节炎模型, 胶原酶消化法原代培养正常滑膜细胞与 OA 滑膜细胞。将所培养滑膜细胞分为正常组、OA 模型组和补肾活血方组, 用补肾活血方含药血清作用 OA 滑膜细胞 48 h 后, 采用 Western Blot 法检测滑膜细胞中 MMP-7、胞核 β -catenin 的蛋白表达变化; 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测滑膜细胞上清液中 MMP-7 表达变化。**结果:**OA 滑膜细胞培养成功, Western Blot 结果显示 OA 滑膜细胞中 MMP-7、胞核 β -catenin 表达均明显高于正常滑膜细胞, 补肾活血方对 OA 滑膜细胞中 MMP-7、胞核 β -catenin 表达有明显下调作用; ELISA 结果显示 OA 滑膜细胞上清液中 MMP-7 表达明显高于正常滑膜细胞上清液, 补肾活血方对其有明显下调作用。**结论:**① β -catenin 在 OA 滑膜细胞胞核中表达升高, 表明 Wnt 经典信号通路在大鼠膝骨关节炎滑膜中是激活的。②MMP-7 在 OA 滑膜细胞和上清液中表达升高, 印证了 MMP-7 是 Wnt/ β -catenin 信号通路下游基因。③滑膜细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路的活化、MMP-7 的表达升高可能是导致关节软骨降解, 促进骨性关节炎形成的机制之一。④补肾活血方对 Wnt/ β -catenin 信号通路的调控作用是其抑制软骨降解, 促进软骨修复, 治疗骨性关节炎的可能机制之一。

【关键词】 骨关节炎, 膝; 补肾活血方; 基质金属蛋白酶 7; 动物实验

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2012.09.014

Influence of Bushen Huoxue decoction (补肾活血汤) on β -catenin, MMP-7 of synoviocytes in rats with knee osteoarthritis YUAN Qin, KAN Wei-bing*, SONG Peng-fei, ZHAO Jin, YU Wei-guo, WANG Yong-jun. *Department of Orthopaedics, Putuo Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China

ABSTRACT Objective: To observe β -catenin expression of Wnt signaling pathway in rats with knee osteoarthritis, and influence of Bushen Huoxue decoction (补肾活血汤) on β -catenin and MMP-7 expression of synoviocytes in rats with knee osteoarthritis (OA). **Methods:** Rats model with knee osteoarthritis were established by Hulth method. Primary synoviocytes and OA synoviocytes were cultured with collagenase digestion method. The cultured synoviocytes were divided into normal group, OA model group and Bushen Huoxue decoction (补肾活血汤) group. Western blotting method was used to detect β -catenin, MMP-7 protein expression of synoviocytes after acting by Bushen Huoxue decoction (补肾活血汤) for 48 h; ELISA method was used to detect MMP-7 expression of synovial supernatant. **Results:** OA synoviocytes were cultured successfully. Western blotting showed that β -catenin, MMP-7 expression in OA synoviocytes was significantly higher than normal group, Bushen Huoxue decoction (补肾活血汤) could significantly reduce β -catenin, MMP-7 expression; ELISA results showed that MMP-7 expression of OA synovial supernatant was significantly higher than normal synoviocytes supernatant, Bushen Huoxue decoction (补肾活血汤) significantly regulated the level MMP-7 down. **Conclusion:** ① High expression of β -catenin in OA synoviocytes indicates that Wnt classical signal pathway is activated in rat with knee osteoarthritis; ② High expression of MMP-7 expression in OA synoviocytes confirms the MMP-7 is downstream genes of Wnt/ β -catenin signal pathway; ③ Activation of Wnt signal pathway and increase of MMP-7 may cause degradation of articular cartilage, and promote the formation of osteoarthritis; ④ Bushen Huoxue decoction (补肾活血汤) can reduce expression of MMP-7, and promote cartilage repair, which may be one of mechanisms of osteoarthritis.

KEYWORDS Osteoarthritis, knee; Bushen Huoxue Recipe; Matrix metalloproteinase-7; Animal experimentation

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2012, 25(9): 761-765 www.zggszz.com

基金项目: 上海市教委课题资助(编号: 08cz041); 上海市教委高校创新团队课题资助[沪教委科(2009)6号]

Fund program: Supported by Schoolboard of Shanghai City (No. 08cz041)

通讯作者: 阚卫兵 E-mail: hmxby@163.com

骨性关节炎(Osteoarthritis, OA)又称退行性关节炎, 是以关节软骨退变及破坏为主要病变特征的慢性疾病。临床特征表现为关节疼痛和功能障碍, 并伴

有关节腔狭窄、软骨下骨硬化和骨赘的形成。OA 的病理生理改变是炎症介质、基质成分与特定受体结合传递信号进入细胞核, 激活基质金属蛋白酶和炎性基因的转录, 从而使关节内细胞激活^[1]。本研究观察了大鼠骨关节炎滑膜细胞胞核内 β -catenin 表达变化、滑膜细胞以及上清液中 MMP-7 的表达变化, 及其补肾活血方对其的干预作用, 报告如下。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂 OA 滑膜细胞采用 Hulth 经典造模方法获得。II 型胶原酶(Sigma), 胎牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司), DMEM 培养液(Invitrogen Corporation), 兔抗大鼠一抗(Epitomics)、二抗(Jackson), ELISA 试剂盒(购自 Usen Life Science Inc 公司), 蛋白质抽提试剂盒(购自 Sangon S-415), BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)(购自德国 Merck 公司), SDS-PAGE 电泳试剂(购自碧云天), β -catenin、MMP-7 抗体(购自 R&D), Biophitimeter 生物分光光度计、5804R 高速冷冻离心机(购自德国 Eppendorf 公司), CKX41/U-RFLT50 荧光倒置显微镜(购自日本 Olympus 公司), Chemidox 化学发光成像仪(购自 Bio-rad 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 动物选择及模型制备 采用雄性 8 周龄 Wistar 大鼠 20 只, 体重(0.17±0.01) kg(上海市西普尔必凯实验动物有限公司提供, 动物合格证号: SCXK(沪)2008-001609839)。采用 Hulth 法造模, 将动物麻醉后仰卧于手术台上, 无菌条件下取膝关节内侧纵切口长约 2 cm, 显露膝关节, 然后切断前后交叉韧带及内侧副韧带, 保留关节软骨面。术后不固定伤肢, 自由活动。术后给予抗生素腹腔注射 1 周, 预防感染。造模 4 周后, 摘取膝关节滑膜组织。

1.2.2 药物制备 补肾活血方组药物组成: 熟地黄、生地黄、黄芪、当归、怀牛膝、鸡血藤、骨碎补、补骨脂、水蛭、炙甘草。大鼠用药按人和动物间体表面积折算的等效剂量比值计算, 由上海中医药大学附属普陀医院中药制剂室煎制浓缩液为每毫升含生药 0.95 g。

1.2.3 动物分组、给药与取材 将大鼠分为 3 组: 正常组、模型组和补肾活血方组。补肾活血方组每只大鼠给予补肾活血方中药(5 ml/d, 灌胃), 正常组与模型组给予同等量生理盐水。每日灌胃给药 1 次, 连续给药 5 d。末次给药后 2 h, 在无菌条件下行腹主动脉采血, 静置 2 h 后离心去除杂质, 56℃水浴灭活, 然后过滤分装, -40℃冰箱保存备用。

1.2.4 细胞分组及药物干预方法 将培养细胞分为 3 组: ①正常组: 摘取正常大鼠膝关节滑膜组织原

代培养获得; ②模型组: 采用 OA 大鼠膝关节滑膜组织原代培养获得; ③补肾活血方组: 细胞获取同②。正常组与模型组细胞用 20%胎牛血清培养, 补肾活血方组细胞用补肾活血方含药血清培养。取对数生长期细胞用于实验, 药物血清作用 48 h 后用于检测。

1.2.5 滑膜细胞原代培养及免疫化学鉴定 采用 II 型胶原酶消化法培养滑膜细胞。实验具体步骤如下: ①将分离的滑膜组织用含双抗的 PBS 液漂洗 3 次; ②用眼科剪剪碎滑膜组织成 1 mm×1 mm 的小块, 送入培养瓶中, 然后加入含 10%胎牛血清的 II 型胶原酶约 6 ml(胶原酶浓度为 4 mg/ml)进行消化; ③待消化 3 h 后, 吹打混匀细胞悬液, 将其转入离心管中, 1 000 r/min 离心 10 min, 加入 2 ml DMEM 培养液混匀后, 200 目筛网过滤后 1 200 r/min 离心 10 min; ④弃上清液, 加 DMEM 培养液 4 ml 吹打混匀细胞沉淀, 加入 1 ml 胎牛血清(20%终浓度), 置于培养箱中培养。次日去掉未贴壁的细胞。2~3 d 更换 1 次培养液, 倒置显微镜下观察细胞生长状况。

滑膜细胞鉴定方法如下: 把细胞固定后滴加在载玻片上, 用免疫染色洗涤液(P0106)洗涤 2 次, 每次 5 min, 加入免疫染色封闭液(P0102), 封闭 60 min, 加入稀释好的一抗, 室温或 4℃在侧摆摇床上缓慢摇动孵育 1 h, 洗涤后加入稀释好的 FITC 标记的二抗, 再加入洗涤液, 洗涤 5 min, 共洗涤 3 次, 然后荧光显微镜下观察。

1.3 观察项目与方法

1.3.1 酶联免疫吸附法检测滑膜细胞上清液中 MMP-7 的水平 操作方法: ①抗原包被, 每孔 200 μ l, 37℃温育 1 h 后, 4℃冰箱放置 16~18 h。②洗涤, 用洗涤液反复洗涤 3 次, 最后将反应板倒置在吸水纸上, 使孔中洗涤液流尽。③加封闭液 200 μ l, 37℃放置 1 h。④洗涤同②。⑤加被检血清: 用稀释液将被检血清作几种稀释, 每孔 200 μ l; 同时作稀释液对照; 37℃放置 2 h。⑥洗涤同②。⑦加辣根过氧化物酶羊抗兔 IgG, 每孔 200 μ l, 放置 37℃1 h。⑧洗涤同②; 加底物: 邻苯二胺溶液加 200 ml, 室温暗处 10~15 min; 加终止液: 每孔 50 μ l; 观察结果: 用酶联免疫检测仪记录 490 nm 读数。⑨绘制标准曲线: 以标准品浓度对数为横坐标, 以 A 值为纵坐标; 去除空白对照组 A 值, 绘制标准曲线并计算相应的回归方程。⑩计算含量: 以样品 A 值减去空白对照 A 值, 按相应的回归方程计算样品 MMP-7 含量。

1.3.2 滑膜细胞胞核蛋白 β -catenin 及总蛋白中 MMP-7 的检测 操作方法: 收集对数生长期各组细胞每组的约 2×10^6 个, 用预冷 PBS 洗涤 2 次, 吸弃 PBS, 加入预冷的蛋白裂解液在冰上裂解 0.5 h,

14 000 g 离心 15 min, 吸弃上清液; BAC 分析试剂测定蛋白质浓度。50 μg 总蛋白质在 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳中电泳, PVDF 膜转膜, 5% 脱脂奶粉封闭非特异性抗体, 然后加入 1:1 000 MMP-7 抗体, 4 ℃ 过夜。次日用 TBS/T 洗膜 3 次, 再加入二抗室温孵育 2 h, ECL 显色。β-actin 作内参对照, 分析灰度值计算灰度系数比。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析, 定量资料的实验数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 滑膜细胞中 β-catenin、MMP-7 含量比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 Hulth 法造模 造模至 4 周时, 造模大鼠膝关节软骨明显退变, 滑膜组织增厚, 病变符合骨关节炎的基本变化。

2.2 滑膜细胞培养及鉴定结果 从 OA 滑膜组织分离得到的滑膜细胞在培养箱中培养 48 h 后, 可见少量细胞呈梭形生长(图 1)。之后逐渐增多并铺满瓶底, 6 d 左右可以传代。传代细胞再培养 4 d 左右可以再次传代。滑膜细胞贴壁初期呈网状分布生长, 以后随细胞数量的增长逐渐紊乱, 无明显的方向性排列特征, 细胞形态以梭形为主, 两极胞突细长, 末端多与邻近细胞连接并交织呈网。倒置显微镜下观察, 认为本实验的滑膜细胞为成纤维样滑膜细胞。采用免疫荧光染色 FITC 标记的绿色荧光, 滑膜细胞胞浆中 vimentin 呈阳性表达(图 2), 符合成纤维滑膜细胞的特征。

2.3 ELISA 法测定滑膜细胞上清液中 MMP-7 含量 OA 大鼠膝关节滑膜细胞上清液中 MMP-7 的含量与正常组比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 补肾活血方干预后 OA 大鼠膝关节滑膜细胞上清液 MMP-7 的含量与 OA 大鼠膝关节滑膜细胞上清液比较差

异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.4 Western Blot 实验结果

2.4.1 滑膜细胞胞核蛋白 β-catenin 检测 OA 大鼠膝关节滑膜细胞胞核中 β-catenin 的含量与正常组比较差异有统计学意义($P < 0.05$); 补肾活血方干预后 OA 大鼠膝关节滑膜细胞胞核中 β-catenin 的含量与 OA 大鼠膝关节滑膜细胞比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.4.2 MMP-7 含量的测定 OA 大鼠膝关节滑膜细胞中 MMP-7 含量与正常组比较差异有统计学意义($P < 0.05$); 补肾活血方干预后 OA 大鼠膝关节滑膜细胞中 MMP-7 含量与 OA 大鼠膝关节滑膜细胞比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1 和图 3。

表 1 补肾活血方对滑膜细胞上清液中 MMP-7、胞核中 β-catenin、滑膜细胞中 MMP-7 的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Influence of Bushen Huoxue decoction(补肾活血汤) on MMP-7 in supernatant of synovial cells, β-catenin of synovial cells nucleus, MMP-7 of synovial cells($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 鼠数 (只) | 细胞上清液中 MMP-7 | 滑膜细胞中 MMP-7 | β-catenin |
|--------|--------|--------------|-------------|------------|
| 正常组 | 3 | 11.6±0.51* | 0.90±0.02* | 0.92±0.05* |
| 模型组 | 3 | 76.86±0.57 | 3.33±0.06 | 3.16±0.06 |
| 补肾活血方组 | 3 | 41.7±0.69* | 0.87±0.04* | 0.87±0.04* |

注: 与模型组相比, * $P < 0.05$

Note: Compared with OA model group, * $P < 0.05$

3 讨论

近年来随着对 OA 研究的逐步深入, 滑膜在 OA 中的作用越来越受到重视。滑膜释放的细胞因子, 参与免疫反应, 介导软骨的破坏是目前 OA 发病机制研究的热点之一。滑膜细胞是构成滑膜层的最大细胞群体, 是维持关节正常功能的重要组织结构。滑膜由 A 型(巨噬样滑膜细胞)、B 型(成纤维样滑膜细胞)以及 C 型(树突细胞样滑膜细胞)细胞组成^[2]。B 型滑膜细胞能够合成和分泌透明质酸、I 型和 III 型胶原蛋白酶及白介素 6 等。在骨关节炎疾病中, 滑膜内层增生肥厚, 增生的滑膜组织向关节软骨面生长并侵蚀关节软骨, 滑膜细胞异常分泌并释放基质金属蛋白酶-3 等细胞因子, 从而引起骨组织的破坏^[3]。

在 OA 的早期, 滑膜的增生和纤维化, 分泌炎症介质和软骨降解酶, 可能是 OA 发病的重要因素, 随着 OA 的进一步发展, 滑膜始终参与其病理过程^[4]。滑膜

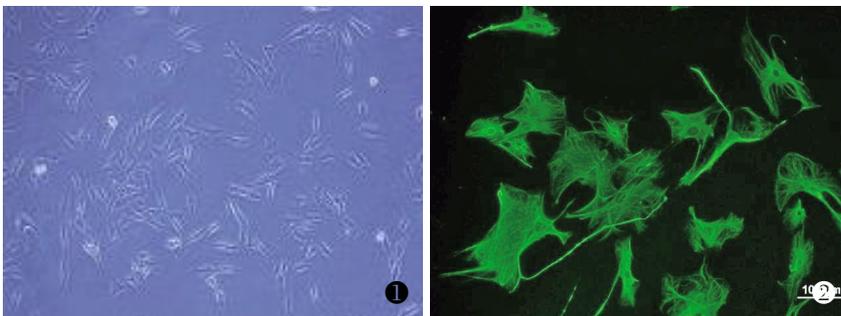


图 1 原代培养生长 48 h 的 OA 大鼠膝关节滑膜细胞生长($\times 100$), 细胞形态以梭形为主, 两极胞突细长, 末端多与邻近细胞连接并交织呈网 图 2 OA 滑膜细胞胞浆中 vimentin 呈阳性表达($\times 100$), 符合成纤维滑膜细胞的特征(间接标记法)

Fig.1 OA synoviocytes of 48 h primary cultivation ($\times 100$) showed morphology was mainly spindle, bipolar of the cell was slender, terminal of the cell intertwined with neighboring cells Fig.2 Expression of synoviocytes in cytoplasm was positive ($\times 100$), and fit for characteristics of synoviocytes (indirect labelling method)

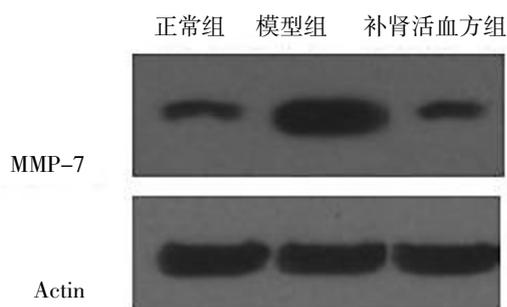


图 3 大鼠膝关节滑膜细胞中 MMP-7 Western Blot 检测结果表明模型组表达高于正常组,补肾活血方干预后其表达显著下调

Fig.3 Western blotting results of MMP-7 expression in synovial cells showed that model group was higher than that of normal group, MMP-7 expression was significantly reduced after interventions of *Bushen Huoxue decoction* (补肾活血汤)

炎症或滑膜炎在骨性关节炎中是很普遍的现象,它所产生的促炎因子可以不断产生金属蛋白酶,打破软骨降解与修复平衡,因此未来的抗炎治疗应把控制滑膜炎作为减轻继发性炎症损伤的一种方式^[5]。基于以上原因,本研究的重点集中在观察骨关节炎滑膜病变 Wnt/ β -catenin 信号通路和基质金属蛋白酶 MMP-7 的变化,以及补肾活血方对其的调控作用。

3.1 Wnt/ β -catenin 信号通路与骨关节炎的关系对近年来骨关节炎与 Wnt/ β -catenin 经典信号通路相关文献进行分析研究,发现 Wnt 信号通路在骨关节炎发生中的作用越来越受到重视,已证实 Wnt/ β -catenin 信号通路在骨关节炎的病程中起着重要作用,并成为骨关节炎发病机制研究的新热点。在该通路中, β -catenin 在胞浆中积聚并且转移到核内是该通路被激活的标志。在转基因小鼠身上,特异性地调高或抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路后,都会使小鼠产生类似于 OA 的症状^[6-7]。深入研究显示, β -catenin 高表达可以刺激 MMP-2、MMP-3、MMP-7、MMP-9 及 ADAMTS5 的表达增加,这可能是引发软骨基质降解的机制^[8]。

本研究发现大鼠骨关节炎滑膜细胞胞核 β -catenin 是高表达的,说明 Wnt/ β -catenin 信号通路在骨关节炎滑膜细胞中是激活的,该通路的激活可以从一个侧面证实培养的滑膜细胞为骨关节炎滑膜细胞,大鼠骨关节炎模型造模是成功的。滑膜细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路激活后,可以引起下游目的基因中基质金属蛋白酶的表达升高,基质金属蛋白酶对软骨基质具有降解作用,从而诱发软骨的降解,软骨细胞的凋亡,促进骨关节炎的发生、发展。而补肾活血方对滑膜细胞核内 β -catenin 具有下调作用,核内 β -catenin 表达下降,Wnt/ β -catenin 信号通路被抑制,包括基质金属蛋白酶在内的下游基因表达

下降,从而阻止软骨基质的降解,防止软骨细胞的凋亡,减缓或阻止骨关节炎的发展。本实验结果说明补肾活血方治疗骨关节炎可能是通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路来实现的,这为中医传统的补肾活血法治疗骨关节炎提供了理论依据。

3.2 基质金属蛋白酶与骨关节炎的关系 基质金属蛋白酶(MMPs)由滑膜及软骨细胞合成,在 OA 关节软骨细胞外基质合成与降解失衡中起决定作用,因此 MMPs 在骨关节炎中起着关键的作用,其病理学作用在骨关节炎中主要表现为组织降解^[9]。

MMP-7 属于 MMPs 基因家族的成员之一,其分子量最小,为 28 kb,缺少其他成员共有 c-末端血红素样结构,对 MMPs 的组织抑制剂(TIMP)几乎不起作用;另外,它还能激活其他成员。MMP-7 具有强大的基质降解活性和广泛的底物特异性,其包括 IV 型胶原、层黏蛋白、纤维结合素、蛋白多糖、I 型明胶和可溶性弹性蛋白等底物。吕大鹏等^[10]采用 SABC 免疫组织化学染色法分别检测正常膝关节滑膜与重度骨性关节炎患者膝关节滑膜中 MMP-7 的表达,证明 MMP-7 在骨性关节炎患者滑膜中高表达。笔者运用基因芯片技术在家兔膝关节骨性关节炎滑膜组织中发现 MMP-7 的表达比正常家兔高^[11]。

本研究发现 MMP-7 在骨关节炎滑膜细胞中以及 OA 滑膜细胞上清液中表达是升高的,证实了 MMP-7 在骨关节炎滑膜细胞中也是 Wnt/ β -catenin 信号通路的下游靶基因,随着该通路的激活而表达升高。骨关节炎滑膜细胞中高表达的 MMP-7 可以分泌到细胞外,进入关节腔,对软骨基质和胶原纤维进行降解,诱发软骨细胞的凋亡,促进骨关节炎的发生、发展。而补肾活血方可以下调骨关节炎滑膜细胞 MMP-7 的表达,这可能是通过抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路来实现的,MMP-7 表达的下降,可以减轻其对软骨基质和胶原纤维的降解作用,从而阻止了软骨细胞的凋亡。本实验结果显示补肾活血方治疗骨关节炎是通过抑制 MMP-7 的表达来实现的,这可能是补肾活血方治疗骨关节炎的机制之一。

3.3 补肾活血方中中药的现代药理学研究 现代药理学研究表明:生地能扩张血管,减低毛细血管的通透性,抑质血管内皮炎症,抑制大鼠实验性关节滑膜肿胀炎症^[12]。牛膝根提取液有较强的抗炎消肿作用,此并非通过肾上腺皮质释放皮质激素所致,其机制在于牛膝可提高机体免疫功能,激活小鼠 M 中对细菌的吞噬能力以及扩张血管、改善循环、促进炎症病变吸收等作用^[13]。戴伟札等^[14]用甲醛致痛模型进行牛膝的镇痛作用实验,结果不同产地的怀牛膝均有镇痛作用。刘屏等^[15]研究表明鸡血藤中的儿茶素

对造血祖细胞的刺激增殖活性相对最强,可能是鸡血藤补血活血的主要物质基础。刘芳^[16]研究表明:当归对大鼠 ADR 和胶原诱导的血小板凝聚有明显的抑制作用。当归多糖及其硫酸酯也有显著延长凝血时间、缩短出血时间、延长凝血酶时间和活化部分凝血活酶时间等作用,关键是影响内源性凝血系统。通过以上各种成分的现代研究发现,补肾活血方主要是通过抑制滑膜炎、消除滑膜肿胀、镇痛等作用来达到治疗骨关节炎的目的。

本实验发现 OA 滑膜细胞胞核内 β -catenin 的表达明显升高,这说明 OA 滑膜细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路是激活的;滑膜细胞中 MMP-7 的表达升高,印证了 MMP-7 是该通路的下游基因;OA 滑膜上清液中 MMP-7 表达的升高,可以从实验层面证明滑膜细胞可以将 MMP-7 分泌到关节腔内,从而对软骨进行降解。补肾活血方对 OA 滑膜细胞胞核 β -catenin 具有明显的下调作用,这说明补肾活血方 Wnt/ β -catenin 信号通路具有一定的调控作用,而对滑膜细胞 MMP-7 的下调作用可能是其调控关节软骨细胞外基质的降解、抑制软骨细胞凋亡、延缓软骨损伤、阻止关节退变的机制之一,而补肾活血方是否就是直接通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路来调控 MMP-7 的,尚需要进一步的深入研究。

参考文献

- [1] Goldring MB, Goldring SR. Osteoarthritis[J]. J Cell Physiol, 2007, 213(3):626-634.
- [2] 陈智能, 杨连梓. 滑膜性病变与骨性关节炎[J]. 福建中医学院学报, 2003, 13(4):53.
Chen ZN, Yang LZ. Synovial lesions and osteoarthritis[J]. Fu Jian Zhong Yi Xue Yuan Xue Bao, 2003, 13(4):53. Chinese.
- [3] 蒋建平, 杨铁城, 侯凡凡, 等. 人类关节滑膜 A 型和 B 型细胞的分离和体外培养[J]. 第一军医大学学报, 2001, 21(1):52-55.
Jiang JP, Yang TC, Hou FF, et al. Isolation and culture of human joint type-A and type-B synovial cells[J]. Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2001, 21(1):52-55. Chinese.
- [4] 汤继文, 刘新宇. 骨关节病的诊治[J]. 山东医药, 2000, 40(15):43.
Tang JW, Liu XY. Diagnosis and treatment of osteoarthritis[J]. Shan Dong Yi Yao, 2000, 40(15):43. Chinese.
- [5] Sutton S, Clutterbuck A, Harris P, et al. The contribution of the synovium, synovial derived inflammatory cytokines and neuropeptides to the pathogenesis of osteoarthritis[J]. Vet J, 2009, 179(1):10-24.
- [6] Zhu M, Tang D, Wu Q, et al. Activation of beta-catenin signaling in articular chondrocytes leads to osteoarthritis-like phenotype in adult beta-catenin conditional activation mice[J]. J Bone Miner Res, 2009, 24(1):12-21.
- [7] Zhu M, Chen M, Zuscik M, et al. Inhibition of beta-catenin signaling in articular chondrocytes results in articular cartilage destruction[J]. Arthritis Rheum, 2008, 58(7):2053-2064.
- [8] Tamamura Y, Otani T, Kanatani N, et al. Developmental regulation of Wnt/beta-catenin signals is required for growth plate assembly, cartilage integrity, and endochondral ossification[J]. J Biol Chem, 2005, 280(19):19185-19195.
- [9] Amălinei C, Căruntu ID, Giuscă SE, et al. Matrix metalloproteinases involvement in pathologic conditions[J]. Rom J Morpholo Embryol, 2010, 51(2):215-228.
- [10] 吕大鹏, 白伦浩, 孔冉冉, 等. MMP-7、MMP-9 及其抑制剂 TIMP-3 在骨性关节炎患者膝关节滑膜中的表达和意义[J]. 中国医科大学学报, 2009, 38(4):284-285.
Lü DP, Bai LH, Kong RR, et al. The expression and significance of MMP-7, MMP-9 and its inhibitor TIMP-3 in synovial with knee osteoarthritis patients[J]. Zhongguo Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2009, 38(4):284-285. Chinese.
- [11] 阚卫兵, 袁琴, 宋鹏飞, 等. 自拟补肾活血方对家兔膝关节骨性关节炎模型滑膜组织 MMPs 的影响[J]. 广西中医药, 2011, 34(2):57-59.
Kan WB, Yuan Q, Song PF, et al. The impact of *Bushenhuoxue* recipe on MMPs of synovial tissue in rabbit knee osteoarthritis[J]. Guang Xi Zhong Yi Yao, 2011, 34(2):57-59. Chinese.
- [12] 王朴. 生地黄的现代药理研究与临床应用[J]. 中国中医药现代远程教育, 2008, 6(8):986.
Wang P. Modern pharmacological research and clinical applications of *Rehmannia*[J]. Zhongguo Zhong Yi Yao Xian Dai Yuan Cheng Jiao Yu, 2008, 6(8):986. Chinese.
- [13] 李献平, 刘世昌. 四大怀药对家蚕寿命及生长发育的影响[J]. 中国中药杂志, 1990, 15(9):563.
Li XP, Liu SC. The impact of growth and development of four Genuine drug on silkworm[J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 1990, 15(9):563. Chinese.
- [14] 戴伟礼, 李根池. 小鼠甲醛镇痛模型筛选中药牛膝的镇痛作用[J]. 中成药, 1989, 11(10):29.
Dai WL, Li GC. The effect of *Achyranthes* selection on mouse model of formaldehyde analgesic[J]. Zhong Cheng Yao, 1989, 11(10):29. Chinese.
- [15] 刘屏, 王东晓, 陈桂芸, 等. 鸡血藤单体化合物对造血祖细胞增殖的调控作用研究[J]. 中国药理学通报, 2007, 23(6):741-745.
Liu P, Wang DX, Chen GY, et al. The research of *Millettia* compounds on the proliferation of hematopoietic progenitor cells[J]. Zhongguo Yao Li Xue Tong Bao, 2007, 23(6):741-745. Chinese.
- [16] 刘芳. 当归的心脑血管药理作用研究进展[J]. 咸宁学院学报(医学版), 2010, 24(6):551-553.
Liu F. Pharmacological research of *Angelica* on cardiovascular[J]. Wei Ning Xue Yuan Xue Bao (Yi Xue Ban), 2009, 23(6):551-553. Chinese.

(收稿日期:2012-03-13 本文编辑:李宜)