

density relationships depend on anatomic site[J]. *J Biomech*, 2003, 36(7):897-904.

[6] 钱文多,张开伟. 髌股关节紊乱行关节镜手术治疗对髌股关节生物力学改变的三维有限元分析[J]. *医用生物力学*, 2017, 32(2):143-147.

QIAN WD, ZHANG KW. Three-dimensional finite element analysis on biomechanical changes after arthroscopic surgery for patients with patellofemoral joint disorders[J]. *Yi Yong Sheng Wu Li Xue*, 2017, 32(2):143-147. Chinese.

[7] 杨滨,陈光兴,王志军,等. 基于磁共振图像构建髌股关节三维有限元模型[J]. *中国矫形外科杂志*, 2012, 20(18):1688-1691.

YANG B, CHEN GX, WANG ZJ, et al. Construction of a three dimensional finite element model of the patellofemoral joint through reverse engineering on MR image[J]. *Zhongguo Jiao Xing Wai Ke Za Zhi*, 2012, 20(18):1688-1691. Chinese.

[8] Rhee SJ, Pavlou G, Oakley J, et al. Modern management of patellar instability[J]. *Int Orthop*, 2012, 36(12):2447-2456.

[9] 余振阳,蔡谓,谷旺. 关节镜辅助下解剖重建内侧髌股韧带治疗习惯性髌骨脱位[J]. *中国骨伤*, 2017, 30(4):295-299.

YU ZY, CAI X, GU W. Clinical research on the arthroscopic treatment for recurrent patellar dislocation by anatomical reconstruction of medial patellarfemoral ligament[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2017, 30(4):295-299. Chinese with abstract in English.

[10] Danese I, Pankaj P, Scott CEH. The effect of malalignment on proximal tibial strain in fixed-bearing unicompartmental knee arthroplasty: A comparison between metal-backed and all-polyethylene components using a validated finite element model[J]. *Bone Joint Res*, 2019, 8(2):55-64.

[11] 顾力军,张斌,李文华,等. 铍针与针刀治疗膝骨关节炎对重心指数影响的临床观察[J]. *中国骨伤*, 2017, 30(12):1091-1096.

GU LJ, ZHANG B, LI WH, et al. Stiletto needle and needle knife for influence of gravity index in treating knee osteoarthritis [J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2017, 30(12):1091-1096. Chinese with abstract in English.

[12] Powers CM, Bolgia LA, Callaghan MJ, et al. Patellofemoral pain: proximal, distal, and local factors, 2nd International Research Retreat[J]. *J Orthop Sports Phys Ther*, 2012, 42(6):A1-A54.

[13] Sherman SL, Plackis AC, Nuelle CW. Patellofemoral anatomy and Biomechanics[J]. *Clin Sport Med*, 2014, 33(3):389-401.

[14] Saikat Pal, Thor F, Besier, et al. Patellar tilt correlates with vastus lateralis/vastus medialis activation ratio in maltracking patellofemoral pain patients[J]. *J Orthop Res*, 2012, 30(6):927-933.

(收稿日期:2019-06-15 本文编辑:李宜)

基于 β-catenin 信号通路内热针治疗腰椎退行性病变机制研究

庄金刚¹, 张雄波¹, 陈冬¹, 程肖芳¹, 温建民², 王圆圆¹


(1. 北京中医药大学深圳医院, 广东 深圳 518000; 2. 中国中医科学院望京医院, 北京 100102)

【摘要】 目的:通过观察内热针对腰椎退行性病变大鼠椎间盘组织分泌型糖蛋白(Wnt1)、轴蛋白(Axin)及β-链蛋白(β-catenin)表达的影响,探讨内热针对腰椎退行性病变大鼠纤维环细胞凋亡的调节作用机制。方法:采用Sun等造模方法,将40只SD大鼠随机分为正常组、模型组、内热针组、针刺组,每组10只,除了正常组大鼠外,余均进行造模。选取双侧大肠俞进行内热针及针刺治疗。采用Western-bolt法检测大鼠椎间盘组织Wnt1、Axin及β-catenin的表达。结果:与模型组相比,内热针组和针刺组Wnt1和β-catenin表达均显著下降(P<0.05);内热针组大鼠纤维环Axin表达显著增加(P<0.05),针刺组Axin表达差异无统计学意义(P>0.05)。结论:内热针能下调腰椎退行性病变大鼠纤维环中Wnt1和β-catenin的表达,上调Axin的表达,这表示该机制可能通过调节β-catenin信号通路相关因子的表达水平来治疗腰椎退行性疾病。

【关键词】 β-catenin 信号通路; 内热针; 腰椎退行性病变

中图分类号:R681.5

DOI:10.12200/j.issn.1003-0034.2020.05.019

开放科学(资源服务)标识码(OSID): 

Inner-heating acupuncture of lumbar degenerative lesions based on β-catenin signaling pathway ZHUANG Jin-gang, ZHANG Xiong-bo, CHEN Dong, CHENG Xiao-fang, WEN Jian-min, and WANG Yuan-yuan*. *Shenzhen Hospital of Beijing

基金项目:深圳市龙岗区科技发展专项资金(编号:LGKCYLWS2018000048);深圳市医疗卫生三名工程项目(编号:SZSM201805089)

Fund program:Special Fund for Science and Technology Development of Longgang District of Shenzhen(No. LGKCYLWS2018000048)

通讯作者:王圆圆 E-mail:wangyy325@163.com

Corresponding author:WANG Yuan-yuan E-mail:wangyy325@163.com

University of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen 518000, Guangdong, China

ABSTRACT Objective: By observing the effect of inner-heating acupuncture on the expression of Wnt1, Axin and β -catenin in the intervertebral disc of rats with lumbar degenerative disease and to explore the regulatory mechanism of inner-heating acupuncture on the apoptosis of annulus fibrosus cells in rats with lumbar degenerative disease. **Methods:** Forty SD rats were randomly divided into normal group, model group, inner-heating acupuncture group and acupuncture group with 10 rats in each group. Except for normal group, all rats were modeled. Bilateral *Da Chang Shu* were selected for inner-heating acupuncture and acupuncture treatment. Western-bolt assay was used to detect the expression of Wnt1, Axin and β -catenin in rat intervertebral discs. **Results:** Compared with the model group, Wnt1 and β -catenin expression in annulus fibrosus cells of rats in the inner-heating acupuncture group and the acupuncture group were significantly decreased ($P < 0.05$); the expression of Axin in annulus fibrosus of rats in the inner-heating acupuncture group was significantly increased ($P < 0.05$). There was no significant difference in the expression of Axin in annulus fibrosus of rats between acupuncture group and model group ($P > 0.05$). **Conclusion:** Inner-heating acupuncture can down-regulate the expression of Wnt1 and β -catenin and up-regulate the expression of Axin in annulus fibrosus of rats with lumbar degenerative disease. It is suggested that the mechanism may be to regulate the expression of related factors in the β -catenin signaling pathway, so as to achieve the goal of treating lumbar degenerative diseases.

KEYWORDS β -catenin signaling pathway; Inner-heating acupuncture; Lumbar degenerative diseases

腰椎间盘突出性病变是中老年人腰腿痛的最常见原因^[1],全世界腰痛的患病率为 20.3%~26.1%^[2],严重影响着人们的生活质量。腰椎退变始于椎间盘、关节软骨变性、软化和吸收^[2]。随着年龄增长,椎间盘退变程度逐渐加重,纤维环的变化导致其对髓核的保护作用减弱,营养供给受到一定程度的影响,导致髓核脱水缩小,纤维环的作用逐渐减弱,椎间盘变薄,纤维环向四周膨出,并出现网状变性和玻璃样变,失去原来层次和韧性,产生裂痕,继而发生完全破坏。研究表明,内热针疗法对腰椎间盘突出症、腰椎管狭窄症、顽固性腰腿疼痛、肩周炎、各型颈椎病等疼痛性疾病疗效显著^[3-5]。然而,关于腰椎退行性疾病的内热针治疗机制研究甚少,因此,本研究通过观察内热针对腰椎退行性病变大鼠纤维环分泌型蛋白(Wnt1)、 β -链蛋白(β -catenin)及轴蛋白(Axin)表达的影响,探讨内热针治疗腰椎退行性疾病的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选用清洁级 SD(Sprague-Dawley, SD)雄性大鼠 40 只,体质量(160±10) g。饲养条件:室内温度(23±3) °C,湿度 40%~70%。在动物房适应性饲养 3 d 后,进行造模。按照完全随机分组的方法进行分组,其中正常组 10 只,其余均为造模组。

1.2 动物造模

实验性腰椎间盘突出性病变大鼠模型制备根据 Sun 等^[6]采用前外侧腹膜后入路穿刺的方法制备。造模方法:正常组大鼠施予 L₄-L₅ 椎间隙抓揉,其余造模大鼠给予前外侧腹膜后入路穿刺的方法。用手术小剪刀在大鼠前外侧腹部做 10 mm 直切口后,不要破坏腹膜,使大鼠脊柱暴露。然后用 16 号注射针对大鼠 L₄-L₅ 椎间盘进行环状穿刺,深度 5 mm,最后缝合切口。术后用 0.5% 盐酸金霉素眼膏铺于切口上防

止炎症反应,手术当天所有造模动物禁食禁水,术后第 1 天,给予正常饮食,并连续 3 d 给予头孢拉定 0.5 g,静脉注射。密切观察大鼠的手术切口、排尿、排便死亡情况。继续饲养至术后第 3 周,确认模型是否成功,再进行实验分组与处理。

1.3 分组与治疗

将满足研究需要的 40 只大鼠随机分为正常组(10 只)和造模组(30 只),其中造模组大鼠制备腰椎退行性疾病模型。确定 SD 大鼠模型造模成功后,将造模组大鼠随机分为模型组、内热针组和针刺组,每组 10 只。

(1)正常组:常规饲养,不做任何处理。(2)模型组:不接受治疗,但进行常规麻醉处理及药物注射(药物组成为 2% 的利多卡因 5 ml 加 0.9% 氯化钠注射液 5 ml),在大鼠的双侧大肠俞注射,每周 1 次,持续 4 周。(3)内热针组:同样选取双侧大肠俞注射;术后第 3 周接受内热针干预:常规麻醉及固定,腰部皮肤常规消毒,用 10 cm 长的内热针刺入双侧大肠俞 2 cm,40 °C 恒温加热 20 min,每周 1 次,共 4 周。(4)针刺组:同样选取双侧大肠俞注射;从术后第 3 周开始接受内热针干预,操作方法同内热针组,但不予以加热,每周 1 次,共 4 周。所有大鼠穴位定位参照文献^[7]和大鼠解剖学结构。

1.4 Western-blot 检测

采用 Western-blot 法检测 SD 大鼠 Wnt1、Axin 及 β -catenin 含量表达的变化。具体步骤如下:(1)制胶。①将制胶用的玻璃板(1.5 mm)清洗干净,然后在 37 °C 烤箱中烤干;②配制 15 ml 的 12% 分离胶,用移液枪灌至齿梳下缘 3 mm 左右,然后用异丙醇密封液体表面,除去气泡并隔离空气以使分离胶的上边缘水平、平整;③配制 6 ml 的 5% 浓缩胶,垂直缓慢插入 1.5 mm 10 齿的 Teflon 齿梳,置于室温 30 min

等待凝胶。(2)电泳。①在凝胶完全聚合后,将梳子沿垂直方向缓慢拔出,并安装在电泳装置槽中,将电泳缓冲液加满于两玻璃板中间,于槽的外侧加入少量的电泳缓冲液即可;②将各组大鼠的蛋白提取液用电泳缓冲液稀释 25 倍,再用稀释后的蛋白提取液和 5×SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液按 4:1 的比例配制上样液;③将配好的上样液置于 100 ℃水浴锅中 5 min,使蛋白变性,置于冰上稍稍冷却后,10 000 转,4 ℃,离心 5 min;④将 5 μl 的蛋白预染 Marker 加入到第 1 条泳道,将预先配好的上样液从第 2 条泳道按组别依次加入;⑤盖上电泳装置的槽盖,打开电源,先将电压调至 85 V 恒压电泳,直至指示剂溴酚兰进入分离凝胶后(约 30 min),再将电压调成 125 V 电泳 1 h。(3)转膜(湿转)。①等待电泳完成后,关闭电源,取出玻璃板,撬开凝胶,修剪分离凝胶的大小,然后将其放入转移缓冲液中;②将聚偏氟乙烯(PVDF)膜修剪后置于甲醇中 10 s 左右;③在夹子上按“黑板-黑网海绵-滤纸-胶-膜-滤纸-黑网海绵-透明板”的顺序叠放好,每一层须将气泡赶走。然后夹住夹子,将气放入配有转移缓冲液的电转仪中,将电转仪置于冰盒中,连接正极和负极,打开电源,125 V 转膜 1 h。(4)免疫反应。①转膜结束后,置于 TBST 封闭液一段时间冷却,修剪;②于 5%蛋白标准液(BSA)溶液中封闭 30 min;③将一抗用 5%的 BSA 溶液稀释,将膜置于一抗稀释液中,置于摇床上,4 ℃冰箱孵育过夜。第 2 天取出后,用 TBST 封闭液洗膜 3 次,每次 10 min;④将辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔二抗,用 5%的 BSA 溶液稀释至合适的浓度,将膜置于稀释的二抗中,并在摇床上室温孵育 1 h;⑤TBST 封闭液摇床洗 3 次,每次 5 min。(5)增强化学发光(enhanced chemiluminescence, ECL)。将试剂盒(极超敏 ECL 化学发光试剂盒)中 A 液和 B 液按 1:1 的比例配制成发光液,并在混合后,用移液管将气完全浸透在膜上,并孵育 2 min。(6)凝胶成像。在凝胶成像系统中自动曝光成像,运用系统自带软件进行条带分析,测定出蛋白条带的数值,并将蛋白条带、图像及数值保存在电脑上待日后进行统计学分析。

1.5 统计学处理

所有实验数据采用 SPSS 21.0 统计软件进行统计学分析。服从正态分布和方差齐,则用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)来表示,采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行统计学检验,组间两两比较采用最小显著差异(Least significant difference, LSD)检验进行统计学检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠 Wnt1 蛋白含量的表达

由表 1 和图 1 可以看出,模型组大鼠纤维环 Wnt1 的表达高于正常组($P = 0.000$);与模型组相比,内热针组和针刺组大鼠纤维环 Wnt1 的表达降低($P = 0.011, 0.005$)。

表 1 各组大鼠 Wnt1, Axin 和 β -catenin 的阳性表达比较
Tab.1 Comparison of positive expression of Wnt1, Axin, β -catenin in each group of rats

组别	鼠数 (只)	Wnt1 表达量($\bar{x} \pm s$)	Axin 表达量($\bar{x} \pm s$)	β -catenin 表达量($\bar{x} \pm s$)
正常组	10	0.91±0.22	1.95±1.31	0.89±0.12
模型组	10	2.42±0.86 ^{a1}	0.86±0.47 ^{a4}	2.28±0.57 ^{a7}
内热针组	10	1.58±0.60 ^{a2b1}	1.88±0.78 ^{a3b3}	1.19±0.49 ^{a8b5}
针刺组	10	1.49±0.61 ^{a3b2}	1.55±1.08 ^{a4b4}	1.66±0.71 ^{a9b6}
F 值		8.127	1.836	11.657
P 值		<0.001	<0.05	<0.001

注:与正常组相比, ^{a1} $P = 0.000$, ^{a2} $P = 0.072$, ^{a3} $P = 0.03$, ^{a4} $P = 0.045$, ^{a5} $P = 0.896$, ^{a6} $P = 0.453$, ^{a7} $P = 0.000$, ^{a8} $P = 0.247$, ^{a9} $P = 0.005$ 。与模型组比较, ^{b1} $P = 0.011$, ^{b2} $P = 0.005$, ^{b3} $P = 0.000$, ^{b4} $P = 0.193$, ^{b5} $P = 0.000$, ^{b6} $P = 0.021$
Note: Compared with the normal group, ^{a1} $P = 0.000$, ^{a2} $P = 0.072$, ^{a3} $P = 0.03$, ^{a4} $P = 0.045$, ^{a5} $P = 0.896$, ^{a6} $P = 0.453$, ^{a7} $P = 0.000$, ^{a8} $P = 0.247$, ^{a9} $P = 0.005$. Compared with the model group, ^{b1} $P = 0.011$, ^{b2} $P = 0.005$, ^{b3} $P = 0.000$, ^{b4} $P = 0.193$, ^{b5} $P = 0.000$, ^{b6} $P = 0.021$

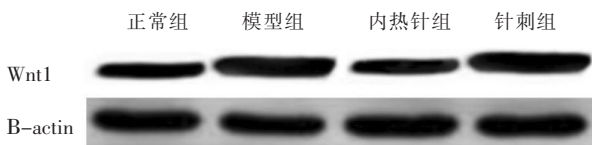


图 1 各组大鼠 Wnt1 的阳性表达比较
Fig.1 Comparison of positive expression of Wnt1 in each group of rats

2.2 各组大鼠 Axin 含量的表达

由表 1 和图 2 可知,与正常组相比,模型组大鼠纤维环 Axin 的表达降低($P = 0.045$);与模型组相比,内热针组大鼠纤维环 Axin 的表达增加($P = 0.000$),针刺组大鼠纤维环 Axin 的表达差异无统计学意义($P = 0.193$)。

2.3 各组大鼠 β -catenin 含量的表达

由表 1 和图 3 可知,与正常组相比,模型组大鼠纤维环 β -catenin 的表达升高($P = 0.000$);与模型组相比,内热针组及针刺组大鼠纤维环 β -catenin 的表达降低($P = 0.000, 0.021$)。

3 讨论

腰椎退行性病变首先发生在椎间盘,椎间盘退变是由多种病因参与、相互作用后产生复杂的一系

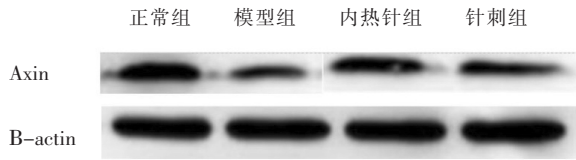


图 2 各组鼠 Axin 的阳性表达比较

Fig.2 Comparison of positive expression of Axin in each group of rats

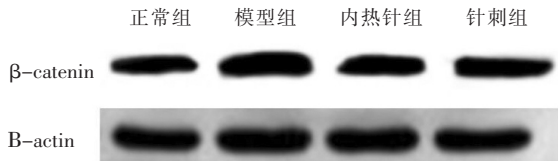


图 3 各组大鼠 beta-catenin 的阳性表达比较

Fig.3 Comparison of the positive expression of beta-catenin in each group of rats

列的生物学过程。病理表现为纤维环和髓核中所含的水分降低,髓核中所含的蛋白多糖日益减少,纤维环及髓核细胞变性失去弹性,趋向软骨样化生,软骨板变薄,纤维环的附着点亦松弛。主要临床特征为腰痛、坐骨神经痛以及神经功能紊乱等,严重影响患者的生活质量。这种疾病的发病机制尚不完全清楚,研究表明,髓核细胞数量的减少可导致椎间盘退变。细胞凋亡是退变椎间盘组织细胞数量下降的重要原因^[8]。

中医认为,腰椎退行性变属于“痹病”和“腰痛”的范畴,由于肝肾气血不足,外力伤及筋骨,致瘀血内阻,气血运行失调,或因风寒湿邪外袭,邪滞经络,致机体阴阳平衡失调而引发本病。本研究选用双侧大肠俞作为治疗用穴,因为大肠俞位于 L₄ 水平,邻近腰府。督脉具有调节全身阳气的功能;大肠俞穴位于足太阳膀胱经之上,又与督脉相邻,五脏六腑之气均在此输转,故有振督脉之阳、助膀胱气化、疏通经脉、活血定痛之功。

3.1 内热针的作用机制

内热针是骨科学者宣蛰人在银质针的基础上,避其缺点,结合现代工艺,经过改良后发明的^[9]。研究表明,内热针可以增强慢性软组织损伤大鼠受损肌肉的抗氧化能力,促进慢性软组织损伤大鼠骨骼肌中碱性成纤维生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)的表达及血管新生;加快损伤肌肉的微循环血流灌注^[10]。内热针还可以提高受损组织的抗氧化能力、促进肌腱连接处血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和 bFGF、脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)和胶质细胞源性神经营养因子(glia cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)的表达,加快组织恢复及血管生成等^[11]。

3.2 Wnt 信号通路在腰椎退行性病变中的作用

Wnt 信号通路具有广泛的生物学效应,在个体生长、发育、代谢、细胞分化,它在许多生物过程中发挥重要作用,如细胞的凋亡和坏死^[12-13]。beta-catenin 是由 CTNNB1 基因编码的多功能蛋白质,其介导信号转导和细胞间黏附。beta-catenin 位于 Wnt/beta-catenin 信号通路的中心位置,被认为是该信号途径激活的标志^[14-15]。Wnt 信号通路可根据激活途径是否依赖于 beta-catenin 的激活而分为两大类,包括 Wnt/beta-catenin 信号通路, Wnt-Ca²⁺ 信号通路和平面细胞极性信号通路。现已证实, Wnt/beta-catenin 信号与多种疾病密切相关,并与细胞的死亡方式密不可分。Wnt/beta-catenin 信号在这些途径中起调控作用^[16]。

目前关于 Wnt/beta-catenin 信号通路的研究,多针对关节软骨细胞形成、退变与修复过程中起了重要调控作用。椎间盘结构为类软骨细胞,所含的蛋白聚糖和 II 型胶原在椎间盘退变后含量明显降低。所以 Wnt/beta-catenin 信号通路在椎间盘退变中一定发挥作用,这一点也在近年来的研究中得以证实^[17]。beta-catenin 由 130 个氨基酸残基构成,存在于细胞质、细胞膜和细胞核中,且以细胞质中含量最多。beta-catenin 是经典 Wnt 信号传导途径中关键中心因子,并且其在细胞中稳定积累的调节对于途径的激活是至关重要的^[18]。当细胞质内的 beta-catenin 积累到一定量时,进入细胞核促进基因的转录。beta-catenin 在成骨细胞中广泛表达并促进成骨细胞的分化和存活。研究发现,在骨重建过程中, Wnt-3alpha/beta-catenin 调控骨形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)通路在成骨细胞分化和软骨形成以及损伤修复中起着非常重要的作用^[19]。Wnt 途径中最关键的转导子是 beta-catenin,当 Wnt 信号传导途径被激活时,异常表达的 Wnt 途径和 beta-catenin 可加剧骨破坏和椎间盘病变^[20],骨破坏和骨吸收远远超过骨形成代偿,因此导致正常的骨重建过程被打破。

本实验中腰椎退行性病变大鼠 Wnt1 及 beta-catenin 的含量较正常组明显升高,而内热针治疗后的含量均明显下降;而腰椎退行性病变大鼠 Axin 的含量较正常组明显降低,内热针治疗后其含量明显升高。结果表明,内热针在调节腰椎退行性病纤维环的细胞凋亡中起重要作用。内热针可通过调节 beta-catenin 所介导通路的相关因子 Wnt1、beta-catenin 及 Axin 的表达来调节纤维环细胞的凋亡速度,然而,其作用机制仍有待进一步研究阐明。

参考文献

- [1] Zheng CJ, Chen J. Disc degeneration implies low back pain[J]. Theor Biol Med Model, 2015, 9(12): 24.
- [2] Hoy D, Bain C, Williams G, et al. A systematic review of the glob-

- al prevalence of low back pain[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(6): 2028–2037.
- [3] 陈思华. 内热针治疗椎动脉型颈椎病的临床研究[D]. 湖北中医药大学, 2015.
CHEN SH. Clinical study on the treatment of vertebral artery type cervical spondylosis with internal heat acupuncture[D]. Hubei University of Traditional Chinese Medicine, 2015. Chinese.
- [4] 陈冬, 庄金刚, 程肖芳. 内热针疗法治疗慢性软组织损伤性疼痛研究概述[J]. 上海针灸杂志, 2019, 38(6): 699–702.
CHEN D, ZHUANG JG, CHENG XF. Summary of the study on the treatment of chronic soft tissue injury pain by internal heat acupuncture[J]. *Shang Hai Zhen Jiu Za Zhi*, 2019, 38(6): 699–702. Chinese.
- [5] 占超, 吴群, 丁一, 等. 内热针对强直性脊柱炎患者临床疗效及免疫功能的影响[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(11): 2693–2695.
ZHAN C, WU Q, DING Y, et al. Effect of internal heat on clinical efficacy and immune function of patients with ankylosing spondylitis[J]. *Shi Zhen Guo Yi Guo Yao*, 2019, 30(11): 2693–2695. Chinese.
- [6] Sun W, Zhang K, Zhao CQ, et al. Quantitative T2 mapping to characterize the process of intervertebral disc degeneration in a rabbit mode[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2013, 14: 357.
- [7] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 314–329.
LI ZR. *Experimental Acupuncture*[M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2003: 314–329. Chinese.
- [8] 丁毅, 曾明军, 周彩云. 内热针软组织松解术治疗肩周炎的临床疗效观察[J]. 黑龙江医学, 2016, 40(7): 592.
DING Y, ZENG MJ, ZHOU CY. Observation on the clinical effect of internal heat needle soft tissue lysis in the treatment of scapulo-humeral periarthritis[J]. *Hei Long Jiang Yi Xue*, 2016, 40(7): 592. Chinese.
- [9] 宣蛰人. 软组织外科理论与实践[M]. 北京: 人民军医出版社, 1994: 141–153.
XUAN ZR. *Theory and Practice of Soft Tissue Surgery*[M]. Beijing: People's Military Medical Press, 1994: 141–153. Chinese.
- [10] 张琳, 高谦, 王刚, 等. 内热针治疗腰椎间盘突出症患者磁共振成像观察[J]. 山西医药杂志, 2017, 46(9): 991–994.
ZHANG L, GAO Q, WANG G, et al. MRI observation of patients with lumbar disc herniation treated by internal heat acupuncture[J]. *Shan Xi Yi Yao Za Zhi*, 2017, 46(9): 991–994. Chinese.
- [11] 骆小娟, 张照庆, 尹晶, 等. 内热针治疗对第三腰椎横突综合征模型大鼠损伤组织炎症反应的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2017, 34(5): 703–707.
LUO XJ, ZHANG ZQ, YIN J, et al. The effect of internal heat acupuncture on the inflammatory response of injured tissue in the third lumbar transverse process syndrome model rats[J]. *Guang Zhou Zhong Yi Yao Da Xue Xue Bao*, 2017, 34(5): 703–707. Chinese.
- [12] 席剑铭, 张能, 李晓光, 等. 过表达 KLF4 通过 Wnt/ β -catenin 信号途径调控膀胱癌细胞上皮间质转化及迁移[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2019, 26(8): 862–867.
XI JM, ZHANG N, LI XG, et al. Overexpression of KLF4 regulates epithelial stromal transformation and migration of bladder cancer cells through Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Zhongguo Zhong Liu Sheng Wu Zhi Liao Za Zhi*, 2019, 26(8): 862–867. Chinese.
- [13] 谢健, 童培建, 肖鲁伟. Wnt/ β -catenin 信号通路调节软骨代谢作用于骨坏死疾病的研究进展[J]. 中国骨伤, 2013, 26(7): 613–616.
XIE J, TONG PJ, XIAO LW. Research progress of Wnt/ β -catenin signaling pathway regulating cartilage metabolism in osteonecrosis[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2013, 26(7): 613–616. Chinese with abstract in English.
- [14] 张嘉美, 赵宇, 吴晓玲, 等. Wnt/ β -catenin 信号通路对细胞凋亡和坏死的调控研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2015, 37(9): 1309–1316
ZHANG JM, ZHAO Y, WU XL, et al. Progress in the regulation of Wnt/ β -catenin signaling pathway on apoptosis and necrosis[J]. *Zhongguo Xi Bao Sheng Wu Xue Xue Bao*, 2015, 37(9): 1309–1316. Chinese.
- [15] 张栋, 王庆甫, 张晓哲, 等. β -catenin 与 NF- κ B 信号通路在膝关节炎滑膜炎症中的表达特点及意义[J]. 中国骨伤, 2019, 32(8): 721–726.
ZHANG D, WANG QF, ZHANG XZ, et al. Expression characteristics and significance of β -catenin and NF- κ B signaling pathway in synovitis of knee osteoarthritis[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2019, 32(8): 721–726. Chinese with abstract in English.
- [16] Lara-Castillo N, Johnson ML. LRP receptor family member associated bone disease[J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2015, 16(2): 141–148.
- [17] 朱立国, 张平, 宋庆慧, 等. 补肾活血方对沙鼠增龄过程中腰椎软骨终板钙化干预作用的初步研究[J]. 中国骨伤, 2017, 30(10): 926–932.
ZHU LG, ZHANG P, SONG QH, et al. A preliminary study on the effect of Bushen Huoxue Formula on calcification of lumbar cartilage endplate in gerbils[J]. *Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma*, 2017, 30(10): 926–932. Chinese with abstract in English.
- [18] Ueland T, Olarescu NC, Jorgensen AP, et al. Increased serum and bone matrix levels of the secreted Wnt antagonist DKK-1 in patients with growth hormone deficiency in response to growth hormone treatment[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(2): 736–743.
- [19] 尹逸路. 基于 Wnt/ β -catenin 通路研究补肾活血中药调控 NPCs 延缓椎间盘压力退变的机制[D]. 中国中医科学院, 2019.
YIN XL. Study on the mechanism of kidney tonifying and blood activating Chinese medicine regulating NPCs to delay the pressure degeneration of intervertebral disc based on Wnt/ β -catenin pathway[D]. China Academy of Chinese Medical Science, 2019. Chinese.
- [20] 郑春水, 黄萍萍, 廖军. 电针对颈椎病模型大鼠椎间盘细胞 β -catenin 和 Axin 蛋白表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(5): 1259–1261.
ZHENG CS, HUANG PP, LIAO J. The effect of electroacupuncture on the expression of β -catenin and Axin protein in intervertebral disc cells of rats with cervical spondylosis[J]. *Shi Zhen Guo Yi Guo Yao*, 2015, 26(5): 1259–1261. Chinese.