

中药淫羊藿苷对 TDP-43 介导的骨关节炎软骨细胞病变的作用机制

孙海峰 杨茂伟 时永臣 王守赟

(大连市第二人民医院创伤外科,大连,116011)

摘要 目的:研究分析中药淫羊藿苷对 TDP-43 介导的骨关节炎软骨细胞病变的作用机制,从而为临床有效治疗骨关节炎软骨细胞病变提供参考依据。方法:选取并构建 TDP-43 慢病毒转染人软骨细胞,并予以不同浓度的中药淫羊藿苷进行干预。采用荧光定量 PCR 检测不同组别人软骨细胞的 TDP-43 基因表达情况,采用流式细胞仪检测 TDP-43 慢病毒转染的人软骨细胞加入中药淫羊藿苷前后细胞凋亡情况,通过连续细胞计数观察细胞增殖情况。分别比较 3 组人软骨细胞中靶基因 TDP-43 与 I 型胶原蛋白 α_1 表达情况,TDP-43 慢病毒转染的人软骨细胞加入中药淫羊藿苷前后细胞凋亡情况,加入不同浓度中药淫羊藿苷培养后的软骨细胞计数水平。结果:TDP-43 慢病毒转染的人软骨细胞中 TDP-43 基因表达水平为 (16.02 ± 1.45) ,比正常人软骨细胞、空白慢病毒转染的人软骨细胞的 (1.86 ± 0.13) 、 (1.88 ± 0.12) 高,差异有统计学意义 $(P < 0.05)$;而 3 组 I 型胶原蛋白 α_1 基因表达差异无统计学意义 $(P > 0.05)$ 。加入不同浓度的中药淫羊藿苷后 TDP-43 慢病毒转染的人软骨细胞凋亡率相比加入中药淫羊藿苷前均降低,差异有统计学意义 $(P < 0.05)$ 。培养 3 d 后、6 d 后、12 d 后高浓度中药淫羊藿苷培养的软骨细胞计数比中浓度高,而中浓度中药淫羊藿苷培养的软骨细胞计数水平比低浓度高,差异有统计学意义 $(P < 0.05)$ 。结论:TDP-43 可能在骨关节炎软骨细胞病变过程中发挥负调控作用,而中药淫羊藿苷可通过改善上述过程,改善 TDP-43 介导的骨关节炎软骨细胞病变。

关键词 骨关节炎;软骨细胞病变;淫羊藿苷;TDP-43;作用机制;中药;慢病毒转染;细胞凋亡

Action Mechanism Analysis of Icaritin on TDP-43 Mediated Chondrocytic Lesions in Osteoarthritis

Sun Haifeng, Yang Maowei, Shi Yongchen, Wang Shouyun

(Department of Traumatology, The Second People's Hospital of Dalian, Dalian 116011, China)

Abstract **Objective:** To study and analyze the mechanism of icaritin on TDP-43 mediated chondrocytic lesions in osteoarthritis, so as to provide a reference for effective treatment of chondrocytic lesions in osteoarthritis. **Methods:** TDP43 lentivirus was transfected into human chondrocytes, and intervened by icaritin with different concentrations. Fluorescence quantitative PCR was used to detect the expression of TDP-43 gene in different groups of human chondrocytes. Flow cytometry was used to detect the apoptosis of human chondrocytes transfected with TDP43 lentivirus before and after the addition of icaritin. Three sets of target genes in human cartilage cells TDP43 and collagen expression in alpha 1 I type, the cell apoptosis of TDP43 lentivirus transfection human cartilage cells before and after adding icaritin, cartilage cell count after cultivation by adding different concentration of icaritin were compared respectively. **Results:** TDP43 gene expression level in human chondrocytes transfected with TDP43 (16.02 ± 1.45) was higher than that in normal human chondrocytes and human chondrocytes transfected with lentivirus (1.86 ± 0.13) and (1.88 ± 0.12) , with statistically significant differences (all $P < 0.05$). The comparison of I type collagen and three groups of alpha 1 gene expression levels were not obvious $(P > 0.05)$. The apoptosis rate of human chondrocytes transfected with TDP43 lentivirus after adding different concentrations of icaritin was lower than before adding icaritin, with statistically significant differences (all $P < 0.05$). The chondrocytes cultured with high concentration of icaritin after 3 d, 6 d and 12 d cultivation were higher than the medium concentration, while the chondrocytes cultured with medium concentration of icaritin were higher than the low concentration. And one-way analysis of variance showed that the difference between the groups was statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion:** TDP-43 may play a negative regulatory role in osteoarthritis chondrocytic lesions, while icaritin can improve the above process and further improve the TDP-43 mediated chondrocytic lesions in osteoarthritis.

Key Words Osteoarthritis; Chondrocyte lesions; Icaritin; TDP-43; Mechanism of action; Traditional Chinese medicine; Lentivirus transfection; Apoptosis

中图分类号:R284;R684 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.07.010

骨关节炎属于临床上较为常见的骨科疾病之一,主要是指累及软骨以及软骨下骨的一种退行性病变,主要表现为关节软骨的破坏、软骨下骨的吸收以及关节边缘骨赘的形成等,对患者的生命质量造成了严重影响^[1]。因此,对于该病患者予以及时有效的治疗显得尤为重要。有研究报道显示,炎症反应是骨关节炎的重要因素之一,关节中的炎性细胞在骨关节的发生、发展过程中起着至关重要的作用。关节内结构的不稳以及软骨机械磨损等多种因素通常会促进炎症反应递质的产生,并于关节内形成炎症环境,引发炎症疼痛。随着炎症反应逐渐侵袭至滑膜、软骨下骨、韧带等神经末梢丰富的组织时,炎症反应递质的长期存在会对神经纤维产生刺激,从而导致病灶周围末梢神经发生损伤。且受损的神经可通过促进神经胶质细胞合成、分泌炎症反应递质,从而加剧炎症反应,形成恶性循环。随着近年来相关研究的逐渐深入,越来越多的学者发现炎症反应会促进 TDP-43 的合成,进一步导致细胞凋亡。针对骨关节患者而言,如不给予及时有效的治疗,随着病情的不断进展,会对患者的生命健康安全造成严重影响。然而,临床上西医治疗效果并不十分理想,且长期使用会引发一系列不良反应,对患者预后造成不利影响。近年来,中医药在临床多种疾病的治疗中展现了其独有的优势,尤其是应用在骨关节炎治疗中,效果明显。其中淫羊藿始载于《神农本草经》中,味辛甘,性温,入肝肾二经,具有补肾壮阳、祛风除湿等效用,可用于阳痿遗精、风湿痹痛、麻木拘挛以及筋骨痿软等^[2]。淫羊藿苷则是淫羊藿的有效成分之一,广泛被应用于临床多种骨科疾病的治疗中,具有抗氧化、促进蛋白质合成、增强机体免疫力,抑制破骨细胞活性以及促进成骨细胞生长的作用^[3]。现代药理学证实,淫羊藿苷可通过促进淋巴细胞增殖、抑制淋巴细胞过度凋亡以及激活免疫细胞等途径发挥调节骨组织与骨细胞代谢的作用^[4]。迄今为止,临床上关于淫羊藿苷对 TDP-43 介导的骨关节炎软骨细胞病变的作用机制相关研究并不多见。我们通过研究分析中药淫羊藿苷对 TDP-43 介导的骨关节炎软骨细胞病变的作用机制,旨在为临床有效治疗骨关节炎软骨细胞病变提供参考依据。现报道以下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物细胞培养 购自美国 Sciencell 公司的人软骨细胞,并采用美国 Life 公司生产的 DMEM 高糖培养基予以培养,其中培养基包含 100 mg/mL 青

霉素(购自基诺生物医药技术有限公司)、10% 胎牛血清(购自美国 Hyclone 公司)以及 100 mg/mL 链霉素。待人软骨细胞生长融合至 80%~90% 后,采用 0.25% 的胰酶(购自基诺生物医药技术有限公司)予以处理,胎牛血清终止后离心除去胰酶予以扩增培养。本实验研究经伦理委员会审批(伦理审批号:20180623)

1.1.2 中药淫羊藿苷的制备 取 10 mg 的淫羊藿苷粉末(购自陕西西安飞达生物技术有限公司,生产批号:FD20110415)加入 1 mL 二甲亚砜(DMSO)中,混匀后继续加入 10 mL 的细胞生长稀释液,再次混匀后吸取 10 μ L 的上述液体加入至 10 mL 的细胞培养液中,得到浓度为 1 μ g/mL 的中药淫羊藿苷药液,以 0.22 μ m 无菌滤器过滤除菌,放置于 4 $^{\circ}$ C 条件下保存待用。

1.1.3 试剂与仪器 1) Trizol 试剂盒(上海名劲生物科技有限公司,货号:5003050);2) PCR 仪(购自赛默飞公司的 GeneAmp 9700 型);3) 二氧化碳培养箱(上海跃进医疗器械有限公司,型号:HYQX-III);4) 台式离心机(上海精密仪器仪表有限公司,型号:E33 型)。5) PI(购自上海碧云天生物技术有限公司);6) 流式细胞仪(购自美国贝克曼库尔特公司,型号:DxFLEX 型);7) 细胞计数仪(购自美国 Invitrogen 公司,型号:Countess)。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 1) TDP-43 表达载体与慢病毒包装:采用 Trizol 试剂盒提取人外周血单个核细胞的总 RNA,并通过逆转录获取 cDNA,随后以 PCR 扩增技术获取野生型的 TDP-43 目的基因,引物序列如下:正义链:5' - GAGGATCCCCGGGTACCGT-CGCCACCATGTCTGAATATATTCGGGTAAC-3'。反义链:5' - TCCTTGTAAGTCCATACC-CATTC-CCCAGCGAGAAGACTTAG-3'。PCR 反应条件如下:95 $^{\circ}$ C 10 min 预变性,95 $^{\circ}$ C 30 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,共 35 个循环,72 $^{\circ}$ C 10 min。将上述扩增完成的片段经由胶回收处理,以 AgeI/AgeI 分别双酶切 Lv-GV358-GFP。采用 T4DNA 连接酶促进 TDP-43 目的基因 PCR 产物和酶切线性的质粒之间的连接反应,待重组载体形成后,转化 DH5 α 感受态细菌,通过菌液 PCR 检查阳性克隆后,予以酶切鉴定处理,并移送相关公司进行测序。于 6 孔板上铺 293T 细胞,促使其 24 h 汇合率达至 70%,将制备获取的三质粒 DNA 溶液加入含有 250 μ L DMEM 的培养基中。此外,取 10 μ l 脂质体 Lipofectamine 2000 与 250 μ L

DMEM 的培养基混合,放置于室温条件下碱性 5 min 的孵育。随后将上述 2 种溶液混合,放置于室温条件下进行 20 min 的孵育,将其加入至 293T 细胞中,并放置于 37 ℃,二氧化碳浓度为 5% 的培养箱中培养 6 h。然后更换新的培养液,再次放置在上述条件的培养箱中培养 48 h。采集上清病毒液,采用荧光法测定所获取的 TDP-43-Lv-GV358 病毒液的病毒滴度。2) TDP-43 慢病毒转染人软骨细胞:将人软骨细胞接种于 6 孔板中,每孔细胞数为 3×10^5 ,体系为 3 mL,首先于 DMEM/高糖中培养过夜,随后加入不同 MOI 值的慢病毒,混匀培养 8~12 h 后更换新鲜培养基,放置于 37 ℃、5% 二氧化碳培养箱中培养,以显微镜明确 GFP 荧光强度以及最佳转染 MOI 值。以最佳转染 MOI 值进行慢病毒转染,获取转染 TDP-43 慢病毒与空载体 GV358 慢病毒的人软骨细胞,分别为 30 例与 28 例。见图 1。

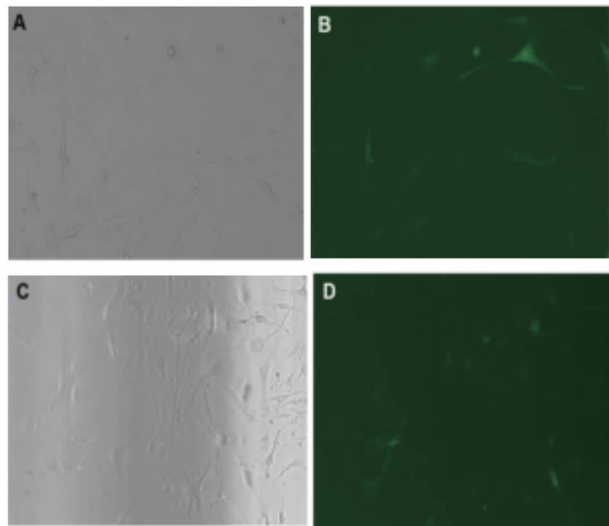


图 1 慢病毒转染图

注:A. 空白慢病毒转染明场($\times 10$ 倍);B. 空白慢病毒转染暗场($\times 10$ 倍);C. TDP-43 慢病毒转染明场($\times 10$ 倍);D. TDP-43 慢病毒转染暗场($\times 10$ 倍)

1.2.2 干预方法 1) 荧光定量 PCR 检测:所有人软骨细胞培养 7 d 后采用 Trizol 提取总 RNA,并通过逆转录获取 cDNA,反应体系为 20 μ L,包括 20~50 ng 的 cDNA,0.2 μ mol/L 各引物以及 10 μ L GoTaq qPCR Master mix。反应条件为 95 ℃ 2 min,55 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,40 个循环。采用 Mx3005PTM Detection System 仪器进行检测。其中 TDP-43 引物如下,正义链:5'-CGGCTAGCGGAAAAGTAA-3',反义链:5'-GAGCCGGACACCTCTCATAC-3';I 型胶原 α_1 引物如下,正义链:5'-GGCAACCT-CAAGAAGTCCC-3',反义链:5'-GTGCAGCCATCCA-

CAAGC-3'。目的基因每个样本重复检测 3 次,以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 进行表示。2) 中药淫羊藿苷干预:取 TDP-43 慢病毒转染完成的人软骨细胞至 6 孔板中,放置于 DMEM/高糖中培养。将其随机分成 3 组,分别加入不同浓度的淫羊藿苷进行干预,其中低浓度组、中浓度组、高浓度组加入淫羊藿苷浓度分别为 10 ng/mL、20 ng/mL、30 ng/mL。

1.2.3 检测指标与方法 比较 3 组人软骨细胞中靶基因 TDP-43 与 I 型胶原蛋白 α_1 表达情况,TDP-43 慢病毒转染的人软骨细胞加入中药淫羊藿苷前后细胞凋亡情况,加入不同浓度中药淫羊藿苷培养后的软骨细胞计数水平。其中细胞凋亡情况的检测:人软骨细胞分别在培养 9 d 后进行细胞凋亡的检测分析:取 2×10^5 人软骨细胞采用 PBS 重复洗涤 2 次,重悬于 100 μ L 结合缓冲液中,加入 5 μ L 的 Annexin V-FITC 与 5 μ L 的 PI,混匀后于室温条件下染色 15 min,随后直接采用流式细胞仪进行检测。软骨细胞增殖分析:对软骨细胞进行培养后,于显微镜下观察其形态所发生的改变。并于共培养前后采用胰酶消化,予以台酚蓝染色,采用细胞计数仪进行检测,每次重复检测 3 次,取平均值。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件予以数据分析,计数资料以百分率表示,进行 χ^2 检验。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,进行 t 检验。多组间的计量资料比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组人软骨细胞中靶基因 TDP-43 与 I 型胶原蛋白 α_1 表达比较 TDP-43 慢病毒转染的人软骨细胞中 TDP-43 基因表达水平相比正常人软骨细胞、空白慢病毒转染的人软骨细胞较高,差异有统计学意义($P < 0.05$);而 3 组 I 型胶原蛋白 α_1 基因表达水平相比均不明显,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 TDP-43 慢病毒转染的人软骨细胞加入中药淫羊藿苷前后细胞凋亡比较 加入不同浓度的中药淫羊藿苷后 TDP-43 慢病毒转染的人软骨细胞凋亡率相比加入中药淫羊藿苷前均较低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 加入不同浓度中药淫羊藿苷培养后的软骨细胞计数比较 培养 3 d 后、6 d 后、12 d 后高浓度中药淫羊藿苷培养的软骨细胞计数水平比中浓度高,而中浓度中药淫羊藿苷培养的软骨细胞计数水平比低浓度高,3 组差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 1 3 组人软骨细胞中靶基因 TDP-43 与 I 型胶原蛋白 α₁ 表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	TDP-43	I 型胶原蛋白 α ₁
正常人软骨细胞(<i>n</i> = 30)	1. 86 ± 0. 13 *	1 723. 22 ± 238. 38
空白慢病毒转染的人软骨细胞(<i>n</i> = 28)	1. 88 ± 0. 12 *	1 705. 47 ± 240. 11
TDP-43 慢病毒转染的人软骨细胞(<i>n</i> = 30)	16. 02 ± 1. 45	1 746. 57 ± 237. 95
<i>F</i> 值	24. 305	1. 032
<i>P</i> 值	0. 000	0. 683

注:与 TDP-43 慢病毒转染的人软骨细胞比较,* *P* < 0. 05

表 2 TDP-43 慢病毒转染的人软骨细胞加入中药淫羊藿苷前后细胞凋亡比较($\bar{x} \pm s, \%$)

加入中药淫羊藿苷	低浓度(<i>n</i> = 10)	中浓度(<i>n</i> = 10)	高浓度(<i>n</i> = 10)
加入中药淫羊藿苷前	3. 10 ± 0. 24	10. 23 ± 2. 30	38. 53 ± 10. 32
加入中药淫羊藿苷后	2. 15 ± 0. 20 *	6. 23 ± 1. 05 *	4. 87 ± 0. 57 *
<i>F</i> 值	9. 616	5. 003	10. 298
<i>P</i> 值	0. 000	0. 000	0. 000

注:与加入中药淫羊藿苷前比较,* *P* < 0. 05

表 3 加入不同浓度中药淫羊藿苷培养后的软骨细胞计数比较($\bar{x} \pm s, \times 10^5$)

不同浓度	培养 0 d	培养 3 d	培养 6 d	培养 12 d
低浓度(<i>n</i> = 10)	6. 01 ± 0. 23	3. 16 ± 0. 15	3. 33 ± 0. 16	3. 87 ± 0. 18
中浓度(<i>n</i> = 10)	6. 04 ± 0. 22	4. 72 ± 0. 18 *	5. 42 ± 0. 19 *	6. 79 ± 0. 28 *
高浓度(<i>n</i> = 10)	6. 02 ± 0. 24	5. 87 ± 0. 21 * [△]	6. 24 ± 0. 26 * [△]	8. 01 ± 0. 33 * [△]
<i>F</i> 值	0. 483	11. 305	16. 754	20. 483
<i>P</i> 值	0. 736	0. 000	0. 000	0. 000

注:与低浓度比较,* *P* < 0. 05;与中浓度比较,[△] *P* < 0. 05

3 讨论

随着近年来我国人口老龄化问题的日益加重,骨关节炎的发病率正呈逐年升高趋势,已成为严重影响老年人膝关节以及髋关节慢性疼痛、残废的重要原因^[5-6]。该病患者随着病程的逐渐延长,可能会出现患肢关节肿胀、疼痛、无法站立等临床症状,病情严重者甚至会死亡,给社会、经济的发展造成了极大的影响^[7-8]。TDP-43 是普遍存在于人体的一种核蛋白,属于 1 型 TAR DNA 元件的结合蛋白。药物诱导细胞应急时会促使 TDP-43 于细胞质中累积,参与了囊性纤维化跨膜转导调节因子存活与运动神经元 RNA 剪接的调控过程。TDP-43 在骨性关节炎炎症反应导致的细胞应激中,可能具有一定的调节作用,促进软骨细胞凋亡^[9-10]。迄今为止,临床上关于 TDP-43 在骨性关节炎中的表达是否促进软骨细胞病变的相关报道并不多见。中医认为,骨关节炎属于“骨痹”“痹症”等范畴,其主要病因为肾精亏虚,肾虚血瘀贯穿整个病理过程。因此,临床中医治疗骨关节炎主要以补肾活血为主^[11-12]。中医学认为,肾主骨,肾藏精,精生髓,髓养骨,骨生髓,因此补肾之法可治关节软骨病变以及骨质疏松等^[13-14]。淫羊藿苷对骨科疾病具有一定的调节作用,其可通过

促进钙、磷等物质在骨中的沉积增加骨密度,同时可产生类似于雌激素的抗骨质疏松作用,且有效规避了雌激素的弊端。研究报道表明,淫羊藿苷可通过不同的作用机制,对不同的基因以及细胞因子产生一定影响,促进成骨细胞的增殖以及分化^[15-18]。目前,临床上关于淫羊藿苷对于 TDP-43 基因的作用机制的相关研究较为少见。由此,我们通过研究分析中药淫羊藿苷对 TDP-43 介导的骨关节炎软骨细胞病变的作用机制,目的在于明确淫羊藿苷对 TDP-43 介导的骨关节炎软骨细胞病变的作用机制,为临床治疗骨关节炎提供新的靶点和思路。

本研究结果表明,TDP-43 慢病毒转染的人软骨细胞中 TDP-43 基因表达水平比正常人软骨细胞、空白慢病毒转染的人软骨细胞高;而 3 组 I 型胶原蛋白 α₁ 基因表达水平比较,差异不明显。这提示了 TDP-43 基因转染人软骨细胞并不会对软骨细胞特性产生较大影响。此外,加入不同浓度的中药淫羊藿苷后 TDP-43 慢病毒转染的人软骨细胞凋亡率比加入中药淫羊藿苷前低,差异有统计学意义。提示了 TDP-43 慢病毒转染可能会增加人软骨细胞的凋亡率。分析原因,可能与 TDP-43 在骨性关节炎所引起的炎症反应以及细胞应激过程中发挥负面的调

控作用有关。其中 TDP-43 促进软骨细胞凋亡的具体分子机制可能与细胞应对不同应激反应,快速形成应激颗粒有关。虽然目前体内促使 TDP-43 形成应激颗粒的具体应急因素尚未完全明确,但在部分细胞培养体系中,包括热休克、渗透应激以及内质网应激等因素均能导致 TDP-43 阳性的应激颗粒形成。而淫羊藿苷可能是通过调控 TDP-43 的相关信号转导通路,抑制 TDP-43 的表达,促进了骨细胞的增殖以和分化,并可在骨组织中发挥作用,促进骨形成以及成骨细胞的生长,最终达到降低人软骨细胞凋亡率的目的^[19-20]。而随着淫羊藿苷浓度的增加,其药效也随之增强,因此其抑制软骨细胞凋亡的作用也更加明显。另外,培养 3 d 后、6 d 后、12 d 后高浓度中药淫羊藿苷培养的软骨细胞计数水平比中浓度高,而中浓度中药淫羊藿苷培养的软骨细胞计数水平比低浓度高,3 组间差异有统计学意义。这提示了淫羊藿苷有利于提高软骨细胞计数,且存在剂量依赖效应。究其原因,可认为淫羊藿苷是通过激活 P38 以及 ERK1/2 通路,从而促使细胞 G₁ 期阻滞,P38 通路的激活可对细胞周期的阻滞产生调节作用,而 ERK1/2 通路不仅在细胞周期中发挥着正调节作用,同时可诱导 G₁ 期阻滞起调节作用^[21-23]。因此,淫羊藿苷有利于关节软骨细胞的增殖,且随着其浓度的增加,效果更加明显。

综上所述,中药淫羊藿苷可能通过改善 TDP-43 在骨关节炎软骨细胞病变过程中的负调控作用,从而有利于调节软骨细胞增殖,促进软骨细胞病变的恢复。

参考文献

[1] 石磊,叶城辉,何若洁,等. 肌萎缩侧索硬化症基因 TDP43 致病突变对斑马鱼毒性的影响[J]. 中山大学学报:医学科学版,2014,35(4):481-487.

[2] 蔡国雄,曾意荣,曾建春,等. 淫羊藿苷基于 ER α -Wnt/ β -catenin 信号通路对骨质疏松大鼠成骨分化的影响及机制研究[J]. 中医临床研究,2018,10(11):1-4.

[3] 李睿,杨信信,张小辉,等. 淫羊藿苷治疗骨性关节炎的研究进展[J]. 中国骨质疏松杂志,2018,24(8):1088-1092.

[4] 刘益杰,冯伟,何东仪等. 淫羊藿苷对 II 型胶原诱导型关节炎大鼠骨破坏及血清 RANKL/OPG 的干预作用[J]. 中国中西医结合杂志,2013,33(9):1221-1225.

[5] 郭建斌,闻振坤,李坤,等. 全膝关节置换术治疗骨关节炎及类风湿性关节炎效果比较[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2018,32(3):258-261.

[6] 沈鹏飞,瞿玉兴,王斌,等. miR-30a-5p 靶向作用蛋白激酶 B 基因促进骨关节炎患者软骨细胞的凋亡[J]. 中华医学杂志,2017,97(39):3079-3084.

[7] 闫虎. 骨关节炎相关信号通路的研究[J]. 中华临床医师杂志(连续型电子期刊),2016,10(12):1823-1824.

[8] 黄子奇,宋伟毅,黄伟彦,等. 金属蛋白酶组织抑制因子与骨关节炎相关性研究的进展[J]. 中华关节外科杂志(连续型电子期刊),2016,10(2):79-82.

[9] 石磊,叶城辉,何若洁,等. 肌萎缩侧索硬化症基因 TDP43 致病突变对斑马鱼毒性的影响[J]. 中山大学学报:医学科学版,2014,35(4):481-487.

[10] 董惠,王小新,吴力娟,等. 突变 TDP43 诱导神经元兴奋性升高以及双甲氧姜黄素的神经保护作用[J]. 脑与神经疾病杂志,2013,21(6):435-440.

[11] 李永津,林涌鹏,侯宇,等. 龙螯胶囊与骨髓间充质干细胞移植对膝骨关节炎大鼠软骨修复作用的比较研究[J]. 广州中医药大学学报,2018,35(1):123-128.

[12] 何晓娟,林平冬,马玉环,等. 独活寄生汤含药血清抑制白细胞介素 1 β 诱导的软骨细胞炎症反应的作用机制研究[J]. 中医正骨,2017,29(8):1-7.

[13] 何晓瑾,王磊,王瑞瑞,等. 骨痹方对大鼠膝骨关节炎 PI3K/Akt 信号通路及组织形态学的影响[J]. 南京中医药大学学报,2018,34(2):157-161.

[14] 贺宪,孔畅,曾巧,等. 淫羊藿苷对骨性关节炎家兔 BMSCs 增殖及软骨定向分化影响的实验研究[J]. 湖南中医杂志,2017,33(3):140-143.

[15] 赵晓燕. 淫羊藿苷对人骨关节炎软骨细胞增殖凋亡的影响[J]. 海南医学,2018,29(1):10-13.

[16] 刘益杰,陈世宣,赵仙丽,等. 淫羊藿苷对白细胞介素-1 β 诱导软骨细胞退变的保护作用[J]. 同济大学学报:医学版,2018,39(2):56-60.

[17] 吴曦,彭锐. 不同浓度淫羊藿苷对人骨髓间充质干细胞成骨分化的影响[J]. 中国组织工程研究,2018,22(5):669-674.

[18] 张芳,闫海洋,陈旭义,等. 淫羊藿苷对微重力下骨髓间充质干细胞增殖与凋亡的影响[J]. 中国医药导报,2018,15(1):10-13, 21.

[19] Wilhite R, Sage JM, Bouzid A, et al. Platelet phosphorylated TDP-43: an exploratory study for a peripheral surrogate biomarker development for Alzheimer's disease[J]. Future Sci OA, 2017, 3(4): FSO238.

[20] Huang Y, Huang Q, Su H, et al. TAR DNA-binding protein 43 inhibits inflammatory response and protects chondrocyte function by modulating RACK1 expression in osteoarthritis[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 85:362-371.

[21] Wang C, Zhang C, Liu DL, et al. Simplified Chinese version of hip and knee replacement expectations surveys in patients with osteoarthritis and ankylosing spondylitis: cross-cultural adaptation, validation and reliability[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2018, 19(1): 247.

[22] Parry EL, Thomas MJ, Peat G. Defining acute flares in knee osteoarthritis: a systematic review[J]. BMJ Open, 2018, 8(7): e019804.

[23] Majumder V, Gregory JM, Barria MA, et al. TDP-43 as a potential biomarker for amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis[J]. BMC Neurol, 2018, 18(1): 90.