

· 基础研究 ·

富血小板血浆对硝普钠诱导的软骨细胞
Wnt/ β -catenin 信号通路的影响

赵泉, 吴剑

(湖北省咸宁市中心医院湖北科技学院附属第一医院, 湖北 咸宁 437100)

摘要 目的:观察富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)对硝普钠诱导的软骨细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路的影响。**方法:**取 5 月龄新西兰大白兔耳静脉血制成富血小板血浆。取兔双膝关节软骨,分离、培养软骨细胞。取培养的第 2 代软骨细胞,分为空白对照组、硝普钠对照组、PRP 组和 Wnt 蛋白生成抑制剂 2(the inhibitor of Wnt production-2, IWP-2)组,空白对照组与硝普钠对照组加入生理盐水、PRP 组加入 PRP、IWP-2 组加入 IWP-2 干预 1 h 后,除空白对照组外,其余 3 组再加入硝普钠干预 24 h。采用实时荧光定量 PCR 法检测各组软骨细胞 Wnt1、 β -catenin 和糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) mRNA 的表达情况,采用 Western-blot 法检测各组软骨细胞 Wnt1、 β -catenin 和 GSK-3 β 蛋白表达情况。**结果:**经甲苯胺蓝染色及 II 型胶原免疫组化染色,鉴定所培养细胞为软骨细胞。干预后,4 组软骨细胞 Wnt1、 β -catenin 和 GSK-3 β mRNA 相对表达量组间总体比较,差异均有统计学意义(0.429 ± 0.015 , 0.968 ± 0.058 , 0.693 ± 0.019 , 0.228 ± 0.012 , $F = 4.673$, $P = 0.013$; 0.434 ± 0.021 , 0.948 ± 0.067 , 0.702 ± 0.024 , 0.191 ± 0.011 , $F = 3.918$, $P = 0.008$; 0.816 ± 0.039 , 0.225 ± 0.017 , 0.459 ± 0.018 , 0.929 ± 0.118 , $F = 3.015$, $P = 0.005$)。PRP 组软骨细胞 Wnt1、 β -catenin mRNA 相对表达量均较空白对照组和 IWP-2 组高($P = 0.036$, $P = 0.000$; $P = 0.026$, $P = 0.000$),但均较硝普钠对照组低($P = 0.017$; $P = 0.013$)。PRP 组软骨细胞 GSK-3 β mRNA 相对表达量较空白对照组和 IWP-2 组低($P = 0.001$, $P = 0.000$),但较硝普钠对照组高($P = 0.016$)。干预后,4 组软骨细胞 Wnt1、 β -catenin 和 GSK-3 β 蛋白相对表达量组间总体比较,差异均有统计学意义(0.565 ± 0.017 , 0.941 ± 0.134 , 0.725 ± 0.031 , 0.251 ± 0.013 , $F = 5.062$, $P = 0.017$; 0.526 ± 0.024 , 0.872 ± 0.016 , 0.653 ± 0.016 , 0.262 ± 0.018 , $F = 3.592$, $P = 0.006$; 0.753 ± 0.014 , 0.262 ± 0.015 , 0.579 ± 0.024 , 0.823 ± 0.025 , $F = 2.384$, $P = 0.002$)。PRP 组软骨细胞 Wnt1 和 β -catenin 蛋白相对表达量较空白对照组和 IWP-2 组高($P = 0.031$, $P = 0.000$; $P = 0.041$, $P = 0.002$),但低于硝普钠对照组($P = 0.032$, $P = 0.025$);PRP 组软骨细胞中 GSK-3 β 蛋白相对表达量较空白对照组和 IWP2 组低($P = 0.035$, $P = 0.011$),但高于硝普钠对照组($P = 0.010$)。**结论:**PRP 可抑制兔膝关节软骨细胞中 Wnt1、 β -catenin 的表达,促进 GSK-3 β 的表达。PRP 可抑制硝普钠诱导的软骨细胞 Wnt/ β -catenin 通路活性;但与 Wnt 蛋白生成抑制剂-2 相比,PRP 对软骨细胞 Wnt/ β -catenin 通路活性的抑制作用较弱。

关键词 富血小板血浆;骨关节炎;软骨细胞;硝普钠;Wnt 信号通路; β 连环素;糖原合成酶激酶 3

Effect of platelet-rich plasma on Wnt/ β -catenin signaling pathway in chondrocytes induced by nitroprusside

ZHAO Quan, WU Jian

Xianning Central Hospital, Xianning 437100, Hubei, China

ABSTRACT Objective: To observe the effect of platelet-rich plasma (PRP) on Wnt/ β -catenin signaling pathway in chondrocytes induced by nitroprusside. **Methods:** Five-month-old New Zealand rabbits were selected and their blood was drawn from auricular veins for making PRP. Then the rabbits were executed and their articular cartilages were fetched out from both knees for separating and culturing chondrocytes. The second-generation chondrocytes of New Zealand rabbits cultured in vitro were divided into blank control group, nitroprusside control group, PRP group and the inhibitor of Wnt production-2 (IWP-2) group. The chondrocytes in blank control group, nitroprusside control group, PRP group and IWP-2 group were intervened with normal saline (NS), NS, PRP and IWP-2 respectively for 1 hour, moreover, the chondrocytes in nitroprusside control group, PRP group and IWP-2 group were intervened with nitroprusside for 24 hours. After intervention, the mRNA and protein expression levels of Wnt1, β -catenin and glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β) in chondrocytes of each group were detected by using Real-time fluorescent quantitative PCR and Western-blot assays respectively. **Results:** The cultured cells were identified as chondrocytes through toluidine blue staining and type II collagen immunohistochemical staining. After intervention, there was statistical difference in relative expression levels of Wnt1 mRNA, β -catenin mRNA and GSK-3 β mRNA in chondrocytes between the 4 groups in general (0.429 ± 0.015 , 0.968 ± 0.058 , 0.693 ± 0.019 , 0.228 ± 0.012 , $F = 4.673$,

基金项目:湖北省咸宁市中心医院科研重点资助项目(2016XYA008)

通讯作者:吴剑 E-mail: jianyi8286@163.com

$P=0.013$; 0.434 ± 0.021 , 0.948 ± 0.067 , 0.702 ± 0.024 , 0.191 ± 0.011 , $F=3.918$, $P=0.008$; 0.816 ± 0.039 , 0.225 ± 0.017 , 0.459 ± 0.018 , 0.929 ± 0.118 , $F=3.015$, $P=0.005$). The relative expression levels of Wnt1 mRNA and β -catenin mRNA in chondrocytes were higher in PRP group compared to blank control group and IWP-2 group ($P=0.036$, $P=0.000$; $P=0.026$, $P=0.000$) and were lower in PRP group compared to nitroprusside control group ($P=0.017$; $P=0.013$). The relative expression level of GSK-3 β mRNA in chondrocytes was lower in PRP group compared to blank control group and IWP-2 group ($P=0.001$, $P=0.000$) and was higher in PRP group compared to nitroprusside control group ($P=0.016$). After intervention, there was statistical difference in the relative expression levels of Wnt1 protein, β -catenin protein and GSK-3 β protein in chondrocytes between the 4 groups in general (0.565 ± 0.017 , 0.941 ± 0.134 , 0.725 ± 0.031 , 0.251 ± 0.013 , $F=5.062$, $P=0.017$; 0.526 ± 0.024 , 0.872 ± 0.016 , 0.653 ± 0.016 , 0.262 ± 0.018 , $F=3.592$, $P=0.006$; 0.753 ± 0.014 , 0.262 ± 0.015 , 0.579 ± 0.024 , 0.823 ± 0.025 , $F=2.384$, $P=0.002$). The relative expression levels of Wnt1 protein and β -catenin protein in chondrocytes were higher in PRP group compared to blank control group and IWP-2 group ($P=0.031$, $P=0.000$; $P=0.041$, $P=0.002$) and were lower in PRP group compared to nitroprusside control group ($P=0.032$, $P=0.025$). The relative expression level of GSK-3 β protein in chondrocytes was lower in PRP group compared to blank control group and IWP-2 group ($P=0.035$, $P=0.011$) and was higher in PRP group compared to nitroprusside control group ($P=0.010$). **Conclusion:** PRP can inhibit the expression of Wnt1 and β -catenin and promote the expression of GSK-3 β in chondrocytes of rabbit knees. Meanwhile, PRP can inhibit the activity of Wnt/ β -catenin pathway in chondrocytes induced by nitroprusside. However, PRP is inferior to IWP-2 in inhibiting the activity of Wnt/ β -catenin pathway in chondrocytes.

Keywords platelet-rich plasma; osteoarthritis; chondrocytes; nitroprusside; wnt signaling pathway; beta catenin; glycogen synthase kinase 3

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是常见的关节退行性疾病之一, 发病率随年龄增加而增高, 膝关节最常受累, 临床主要表现为关节疼痛、僵硬、活动受限等, 是中老年人致残的常见原因^[1]。软骨退变、磨损、进行性降解是 OA 的主要病理特征, 软骨细胞凋亡在 OA 的发生发展中起着重要作用^[2-3]。Wnt/ β -catenin 通路是调控骨代谢的重要途径, 对软骨的形成、发育及重建起关键作用, 与 OA 的发生发展有密切的关系^[4]。硝普钠可诱导软骨细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活^[5-6]。富血小板血浆 (platelet-rich plasma, PRP) 中含大量的生长因子, 对韧带等软组织的愈合及软骨的再生有促进作用^[7-8], 可减轻 OA 软骨损伤^[9]。为进一步探讨富血小板血浆治疗 OA 的作用机理, 笔者采用硝普钠诱导激活软骨细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路, 并对富血小板血浆对该通路的影响进行了观察, 现报告如下。

1 材料与仪器

1.1 实验动物 5 月龄新西兰大白兔 5 只, 雄性 2 只、雌性 3 只, 体质量 (1.7 ± 0.2) kg, 购自武汉万千佳和实验动物有限公司, 实验动物合格证号 E(鄂)2016-47。

1.2 实验试剂与仪器 硝普钠 (北京双鹤现代医药技术有限责任公司, 批号: H111021635); DMEM (Thermo Scientific Hyclone, New Zealand); 胞浆蛋白及核蛋白提取试剂盒、SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒、SDS-PAGE 电泳液、

糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、Wnt 蛋白生成抑制剂 2 (the inhibitor of Wnt production-2, IWP-2)、Western-blot 转膜液 (上海碧云天生物有限公司); II 型胶原免疫组化试剂盒、 β -catenin 抗体 (武汉博士德生物工程有限公司); PCR Master Mix (Novatein Bio, USA); 软骨细胞培养基 (ScienCell, USA); Trizol 试剂盒 (南京盛博生物技术有限公司); SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒 (Perfect Real-Time, Japan); 胎牛血清、反转录试剂盒 (Gibco, USA); 光学显微镜 (Olympus, Japan); FTC-2000RT-PCR 系统 (Biotechnology, USA)。

2 方法

2.1 富血小板血浆制备方法 无菌环境下用带 19 号针头的 10 mL 无菌注射器抽取 1 mL 10% 枸橼酸钠润管后, 在兔耳缘静脉穿刺抽取血液至 10 mL。将血液置入 15 mL 离心管, 按 Aghaloo 法^[10]提取 PRP 后, -80°C 冰箱分装保存备用。

2.2 软骨细胞分离、培养和鉴定方法 取出新西兰大白兔双膝关节软骨, 充分漂洗后, 剪成碎末状, 装入离心管中, 用 0.25% 胰蛋白酶和 0.2% II 型胶原酶消化 2~3 h。37 $^{\circ}\text{C}$ 离心 8 min (离心半径 10 cm, 转速 3000 rpm) 后, 收集细胞悬液, 加入 10% DMEM 5 mL。将得到的细胞以 5×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的浓度接种于培养皿中, 置入 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 恒温培养箱传代培养。倒置显微镜下观察细胞生长情况, 取第 2 代细胞进行甲

苯胺蓝染色及Ⅱ型胶原免疫组化染色,对细胞进行鉴定、计数。

2.3 软骨细胞分组和干预方法 取对数生长期的第2代软骨细胞,以 1×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的浓度接种于96孔培养板上,分为空白对照组、硝普钠对照组、PRP组和IWP-2组,每组设6个复孔。空白对照组与硝普钠对照组每孔加入0.8 mL生理盐水,PRP组每孔加入0.8 mL PRP, IWP-2组每孔加入0.8 mL IWP-2 ($100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$),干预1 h后,除空白对照组外,其余3组每孔再加入50 μL 硝普钠($5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)干预24 h。

2.4 实验指标检测方法

2.4.1 实时荧光定量PCR法检测各组软骨细胞 Wnt1、 β -catenin 和 GSK-3 β mRNA 表达情况 硝普钠诱导后,各组取3孔软骨细胞,按Trizol试剂盒说明书提取软骨细胞总RNA,酶标仪测定RNA纯度及浓度。按反转录试剂盒说明书合成cDNA。按照SYBR Premix Ex Taq II试剂盒说明行实时荧光定量PCR检测。引物均由Invitrogen公司合成:Wnt1上游引物5'-CTGCGCCAACACAGAAATTATTGTA-3',下游引物5'-TGCACTGGCATCTTCACTGACTCTT-3',扩增长度353 bp; β -catenin上游引物5'-GGAAATCGTGCGTGACATTA-3',下游引物5'-GGAGCAATGATCTTGATCTTC-3',扩增长度230 bp; GSK-3 β 上游引物5'-GCGTGAGGAGGGATAAGG-3',下游引物5'-CAGTTGGTGAAATAATAAAGG-3',扩增长度226 bp。PCR体系:Mix12.5 μL ,上、下游引物各0.5 μL , cDNA1.0 μL ,剩余用无RNA酶水补足25 μL 。应用FTC-2000RT-PCR系统分析检测结果得到Wnt1、 β -catenin和GSK-3 β mRNA的相对表达量(目的基因与内参 β -actin扩增条带灰度的比值)。

2.4.2 Western-blot法检测各组软骨细胞 Wnt1、

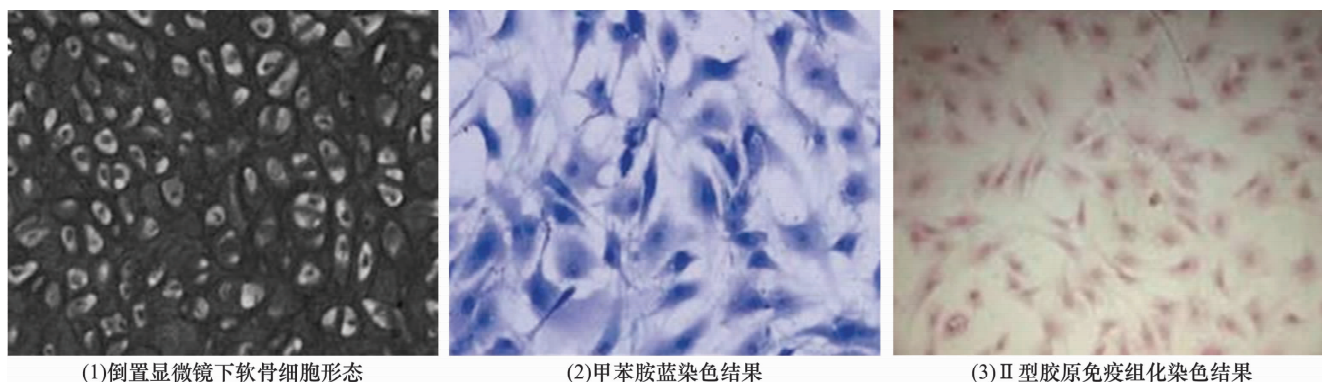
β -catenin 和 GSK-3 β 蛋白表达情况

将10 μL 苯甲基磺酰氟(100 μM)和RIPA裂解液按1:100的比例充分混匀,保存于碎冰中。硝普钠诱导后,各组取3孔软骨细胞用PBS液漂洗2次,充分振荡后去除原液,在25 mm^2 的细胞培养瓶中加入配制好的RIPA裂解液1 mL,细胞吹打均匀、充分裂解后转移至4 $^{\circ}\text{C}$ 的离心管中离心5 min(离心半径15 cm,转速3000 rpm)。取0.4 mL的含细胞液体移至冷EP管中,每管中加入100 μL 蛋白定量缓冲液,煮沸15 min。配置12%的分离胶10 mL、5%的浓缩胶0.67 mL。将配制好分离胶灌入干净的玻板,再灌入5%的浓缩胶,插入梳子晾干。将各组提取的蛋白依次上样,每空加蛋白40 μg ,并加Marker标准品标记。电泳、转膜,将硝酸纤维素膜用洗涤液漂洗3 min后进行封闭。室温条件下用10 $\text{cm} \times 10 \text{ cm}$ 的杂交袋一抗孵育2 h后,再用10 $\text{cm} \times 10 \text{ cm}$ 的杂交袋二抗孵育60 min,用洗涤液冲洗3次,每次10 min。用Bio-Rad成像分析软件分析检测结果得到Wnt1、 β -catenin和GSK-3 β 蛋白的相对表达量(目的蛋白光密度值与内参 β -actin光密度值的比值)。

2.5 数据统计方法 应用SPSS11.9统计软件分析数据。4组软骨细胞Wnt1、 β -catenin、GSK-3 β mRNA和蛋白相对表达量的组间整体比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 q 检验;检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结 果

3.1 软骨细胞培养及鉴定结果 原代细胞在倒置显微镜下很稀疏,呈三角或多角不规则形状,培养24 h后部分软骨细胞贴壁生长,细胞轮廓较清楚[图1(1)]。Ⅱ代细胞甲苯胺蓝染色后细胞核染成蓝色,胞浆及细胞间质可见紫红色异染颗粒[图1(2)];Ⅱ型胶原免疫组化染色后细胞核被染成蓝色,胞质区被染成棕黄色[图1(3)]。培养细胞鉴定为软骨细胞。



(1)倒置显微镜下软骨细胞形态

(2)甲苯胺蓝染色结果

(3)Ⅱ型胶原免疫组化染色结果

图1 兔膝关节软骨细胞鉴定结果($\times 400$)

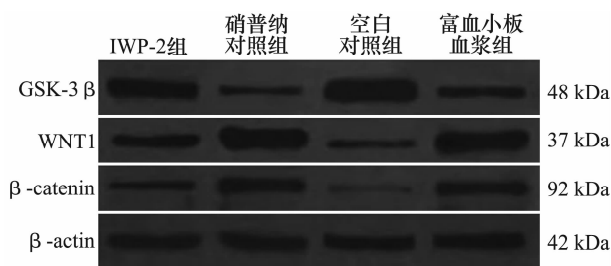
3.2 各组软骨细胞 Wnt1、 β -catenin 和 GSK-3 β mRNA 表达检测结果 干预后,4 组软骨细胞 Wnt1、 β -catenin 和 GSK-3 β mRNA 相对表达量组间总体比较,差异均有统计学意义。PRP 组软骨细胞 Wnt1、 β -catenin mRNA 相对表达量均较空白对照组和 IWP-2 组高 ($P=0.036, P=0.000; P=0.026; P=0.000$),但均较硝普钠对照组低 ($P=0.017; P=0.013$)。PRP 组软骨细胞 GSK-3 β mRNA 相对表达量低于空白对照组和 IWP-2 组 ($P=0.001, P=0.000$),但高于硝普钠对照组 ($P=0.016$)。见表 1。

表 1 干预后各组软骨细胞 Wnt1、 β -catenin 和糖原合成酶激酶-3 β mRNA 相对表达量

组别	样本量(孔)	Wnt1 ($\bar{x} \pm s$)	β -catenin ($\bar{x} \pm s$)	糖原合成酶激酶-3 β ($\bar{x} \pm s$)
空白对照组	3	0.429 \pm 0.015	0.434 \pm 0.021	0.816 \pm 0.039
硝普钠对照组	3	0.968 \pm 0.058	0.948 \pm 0.067	0.225 \pm 0.017
富血小板血浆组	3	0.693 \pm 0.019	0.702 \pm 0.024	0.459 \pm 0.018
Wnt 蛋白生成抑制剂-2 组	3	0.228 \pm 0.012	0.191 \pm 0.011	0.929 \pm 0.118
<i>F</i> 值		4.673	3.918	3.015
<i>P</i> 值		0.013	0.008	0.005

表 2 干预后各组软骨细胞 Wnt1、 β -catenin 和糖原合成酶激酶-3 β 蛋白相对表达量

组别	样本量(孔)	Wnt1 ($\bar{x} \pm s$)	β -catenin ($\bar{x} \pm s$)	糖原合成酶激酶-3 β ($\bar{x} \pm s$)
空白对照组	3	0.565 \pm 0.017	0.526 \pm 0.024	0.753 \pm 0.014
硝普钠对照组	3	0.941 \pm 0.134	0.872 \pm 0.016	0.262 \pm 0.015
富血小板血浆组	3	0.725 \pm 0.031	0.653 \pm 0.016	0.579 \pm 0.024
Wnt 蛋白生成抑制剂-2 组	3	0.251 \pm 0.013	0.262 \pm 0.018	0.823 \pm 0.025
<i>F</i> 值		5.062	3.592	2.384
<i>P</i> 值		0.017	0.006	0.002



GSK-3 β :糖原合成酶激酶-3 β ;IWP-2:Wnt 蛋白生成抑制剂-2

图 2 各组软骨细胞蛋白电泳图

4 讨论

研究表明^[11-12] PRP 含大量血小板衍化生长因子、内皮细胞生长因子和转化生长因子等,对多种类型的细胞损伤治疗作用良好。PRP 获取简单,将其注射到损伤部位促进骨和软组织修复的方法,已在外科领域广泛应用^[13]。实验研究^[14-15]表明 PRP 对软骨的再生有促进作用,其激活释放的多种生长因子共同参与软骨的修复,在关节腔内注射富血小板血浆可减轻退变性关节软骨的病理损伤。

Yuasa 等^[16]的研究发现骨关节炎软骨细胞中

3.3 各组软骨细胞 Wnt1、 β -catenin 和 GSK-3 β 蛋白表达检测结果 干预后,4 组软骨细胞 Wnt1、 β -catenin 和 GSK-3 β 蛋白相对表达量组间总体比较,差异均有统计学意义。PRP 组软骨细胞 Wnt1 和 β -catenin 蛋白相对表达量较空白对照组和 IWP-2 组高 ($P=0.031, P=0.000; P=0.041, P=0.002$),但低于硝普钠对照组 ($P=0.032, P=0.025$);PRP 组软骨细胞中 GSK-3 β 蛋白相对表达量较空白对照组和 IWP2 组低 ($P=0.035, P=0.011$),但高于硝普钠对照组 ($P=0.010$)。见表 2、图 2。

β -catenin mRNA 和蛋白表达较正常软骨细胞明显增高,过度表达的 β -catenin 蛋白会刺激软骨细胞分泌基质金属蛋白酶而引起软骨基质的降解,影响软骨细胞正常的生理活性。Wnt/ β -catenin 通路产物 Wnt1 蛋白过度的表达可引起 β -catenin 持续表达,并可引起具有分化潜能的软骨细胞增生肥大并向终端分化,同时 Wnt1 蛋白过度表达时 GSK-3 β 的活性将受到抑制^[17]。Wnt/ β -catenin 信号通路促进软骨细胞的分化依赖于 GSK-3 β 的表达^[18]。

本研究结果表明,PRP 可抑制兔膝关节软骨细胞中 Wnt1、 β -catenin 的表达,促进 GSK-3 β 的表达。PRP 可抑制硝普钠诱导的软骨细胞 Wnt/ β -catenin 通路活性;但与 Wnt 蛋白生成抑制剂-2 相比,PRP 对软骨细胞 Wnt/ β -catenin 通路活性的抑制作用较弱。

5 参考文献

- [1] CUTOLO M, BERENBAUM F, HOCHBERG M, et al. Commentary on recent therapeutic guidelines for osteoarthritis[J]. Semin Arthritis Rheum, 2015, 44(6): 611-617.

(下转第 12 页)

- [2] 吴剑,鲍同柱. 基质金属蛋白酶在骨性关节炎中的研究进展[J]. 实用医学杂志,2009,25(5):812-813.
- [3] 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 1β 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.
- [4] 陶可,熊晔,曾晖. Wnt/ β -catenin 信号通路与骨关节炎[J]. 国际骨科学杂志,2010,31(4):203-206.
- [5] DELLACCIO F, DE BARI C, EL TAWIL NM, et al. Activation of WNT and BMP signaling in adult human articular cartilage following mechanical injury[J]. Arthritis Res Ther,2006,8(5):139.
- [6] 陈万军,鲍同柱,陈恳,等. 京尼平苷对硝普钠诱导软骨细胞凋亡与细胞周期的影响[J]. 中国骨伤,2013,26(3):232-235.
- [7] KON E, BUDA R, FILARDO G, et al. Platelet-rich plasma: intra-articular knee injections produced favorable results on degenerative cartilage lesions[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc,2010,18(4):472-479.
- [8] PICARD F, HERSANT B, NIDDAM J, et al. Injections of platelet-rich plasma for androgenic alopecia: A systematic review[J]. J Stomatol Oral Maxillofac Surg,2017,118(5):291-297.
- [9] WU J, ZHANG Z, QIN X, et al. Platelet-rich-plasma alleviates pathological symptoms in a rabbit model of osteoarthritis[J]. Int J ClinExp Med,2016,9(11):21038-21047.
- [10] FREY MILLER EG, AGHALOO TL. Platelet-rich plasma: ready or not[J]. J Oral Maxillofac Surg,2004,62(4):484-488.
- [11] ZHANG Y, MORGAN BJ, SMITH R, et al. Platelet-rich plasma induces post-natal maturation of immature articular cartilage and correlates with LOXL1 activation[J]. Sci Rep,2017,7(1):3699.
- [12] 原晓强,金王东,周云婧,等. 纯化血小板对大鼠软骨细胞增殖及膝关节炎大鼠软骨修复的作用研究[J]. 中医正骨,2016,28(12):6-12.
- [13] 尚艳锋,李启义,刘又文,等. 富血小板血浆促进骨修复的研究和应用进展[J]. 中医正骨,2015,27(4):70-71.
- [14] DIETRICH F, HAMMERMAN M, BLOMGRAN P, et al. Effect of platelet-rich plasma on rat achilles tendon healing is related to microbiota[J]. Acta Orthop,2017,88(4):463.
- [15] KAJIKAWA Y, MORIHARA T, SAKAMOTO H, et al. Platelet-rich plasma enhances the initial mobilization of circulation-derived cells for tendon healing[J]. J Cell Physiol,2008,215(3):837-845.
- [16] YUASA T, OTANI T, KOIKE T, et al. Wnt/ β -catenin signaling stimulates matrix catabolic genes and activity in articular chondrocytes: its possible role in joint degeneration[J]. Lab Invest,2008,88(3):264-274.
- [17] CHEN Y, WHETSTONE HC, YOUN A, et al. β -catenin signaling pathway is crucial for bone morphogenetic protein 2 to induce new bone formation[J]. J Biol Chem,2007,282(1):526-533.
- [18] 吴剑. 富血小板血浆对兔膝骨性关节炎的作用及机制研究[D]. 广州:南方医科大学,2014.