

# “加味三痹汤”对大鼠骨髓间充质干细胞 归巢及对椎间盘退变的影响

邓蓉蓉<sup>1</sup> 王彦超<sup>2</sup> 席志鹏<sup>1</sup> 康然<sup>1</sup> 强东坤<sup>1</sup> 顾军<sup>1</sup> 谢林<sup>1△</sup>

**[摘要]** 目的:体内实验观察“加味三痹汤”能否促进外源性大鼠骨髓间充质干细胞(rBMSCs)迁移、归巢至退变的椎间盘,从而探索椎间盘退变修复的可能机制。方法:贴壁法提取 rBMSC,采用 PKH26 红色荧光标记试剂盒标记细胞。针刺法构建大鼠尾椎间盘退变模型,根据改良的 Thompson 分级标准对退变模型进行分级,选取退变Ⅲ级大鼠随机分组进行后续体内实验。将标记 PKH26 的 rBMSCs 通过尾静脉注射移植实验大鼠体内,小动物活体成像技术观察中药灌服后 rBMSCs 迁移和归巢行为;MRI 观察中药对椎间盘退变的作用;免疫组化染色观察中药对椎间盘蛋白多糖及Ⅱ型胶原含量的影响。结果:早期中药组对 BMSCs 迁移和归巢至退变椎间盘的数量未见明显影响,但是在中后期,中药组能够促进移植的干细胞归巢并维持其数量,同时中药组提高退变椎间盘组织中蛋白多糖和Ⅱ型胶原的含量,MRI 观察中药抑制椎间盘退变。结论:“加味三痹汤”能够促进干细胞归巢和抑制椎间盘退变,对于干细胞移植联合中医药治疗具有一定指导意义,在再生医学应用于椎间盘退变治疗方面具有一定的前景。

**[关键词]** 加味三痹汤;骨髓间充质干细胞;归巢;椎间盘退行性疾病

**[中图分类号]** R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2019)05-0014-05

## Observing the Effect of Jiawei Sanbi Decoction on Homing of Rat Bone Mesenchymal Stem Cells and Inhibiting Intervertebral Disc Degeneration

DENG Rongrong<sup>1</sup> WANG Yanchao<sup>2</sup> XI Zhipeng<sup>1</sup> KANG Ran<sup>1</sup>

QIANG Dongkun<sup>1</sup> GU Jun<sup>1</sup> XIE Lin<sup>1△</sup>

<sup>1</sup>Jiangsu Province Hospital on Intergration of Chinese and Western Medicine, Nanjing 210028, China;

<sup>2</sup>Henan Province People's Hospital, Zhengzhou 450000, China.

**Abstract Objective:** To observe whether Jiawei Sanbi decoction can promote the migration of exogenous rat bone mesenchymal stem cells(rBMSCs) homing to intervertebral disc and inhibit the degeneration in vivo, so as to explore the possible mechanism in repair of intervertebral disc degeneration. **Methods:** Rat BMSCs extracted by cell attachment method were labeled by PKH26 and identified by the cell morphology and flow cytometry. SD rats were punctured with 18G needles in Co7/8 and Co9/10 intervertebral discs, MRI was used to assess the degeneration grade according to the improved Thompson grading standard. Rats of grade Ⅲ were randomly divided into four groups for vivo experiment. Rats of the experimental group were transplanted with BMSCs by tail vein injection, and the migration of BMSCs was observed by the small animal imaging techniques in vivo. MRI was used to assess the degeneration grade and immunohistochemical staining (IHC) was used to detect the content of proteoglycan and collagen Ⅱ. **Results:** Chinese medicine had no significant effect on BMSCs migration and homing comparing with the control group in the first week, which happens in the 2 and 4 weeks. At the same time, more proteoglycan and collagen Ⅱ were detected and the inhibition of degeneration in Chinese medicine group. **Conclusion:** Jiawei Sanbi decoction have advantages of BMSCs homing and inhibiting the degeneration of intervertebral disc, which suggest stem cell transplantation combined with traditional Chinese medicine treatment can be applied in regenerating the degeneration of intervertebral disc.

**Keywords:** Jiawei Sanbi decoction; rat bone mesenchymal stem cells; homing; intervertebral disc degeneration diseases

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81772356)

江苏省中医药领军人才项目(SLJ0210)

江苏省干部保健科研项目(BJ16026)

江苏省卫生健康委员会项目(H2018025)

<sup>1</sup>江苏省中西医结合医院,骨伤科

<sup>2</sup>河南省人民医院

△通信作者 E-mail:xielin117@126.com

颈腰痛是造成人类伤残的首要原因<sup>[1]</sup>,其主要病理因素是椎间盘退变<sup>[2]</sup>,研究发现椎间盘中存在干细胞的归巢<sup>[3]</sup>。笔者前期研究发现“加味三痹汤”可以通过调节 NF-κB/CXCR4,抑制炎症、抑制椎间盘退变

的进展<sup>[4]</sup>。同时有多个研究发现,“活血”中药如川芎、三七等具有促进干细胞归巢修复的作用<sup>[5,6]</sup>。因此“加味三痹汤”是否通过调节 NF- $\kappa$ B/CXCR4 促进内源性干细胞归巢抑制椎间盘退变,是笔者目前研究的主要问题。

1 材料和方法

1.1 rBMSCs 的培养、鉴定和荧光标记

选取 4 周龄 SPF 级 SD 大鼠双侧股骨和胫骨,采用密度梯度离心法进行 rBMSCs 分离培养。选取生长培养良好的 P3~5 代,进行细胞实验和流式检测。取生长良好的 P3 rBMSCs,将细胞等分编号为 1~7 号。1 号不加任何抗体,2 号加入 FITC 同型对照 1  $\mu$ L,3 号加入 PE 同型对照 20  $\mu$ L,4 号加入 CD29 抗体 1  $\mu$ L,5 号加入 CD90 抗体 2.5  $\mu$ L,6 号加入 CD34 抗体 5  $\mu$ L,7 号加入 CD45 抗体 2.5  $\mu$ L。进行流式检测,全程需在避光条件下操作。

取生长状态良好的 P3 rBMSCs,制成单细胞悬浮液(约含  $20 \times 10^6$  细胞)。普通离心机 400g 离心 5 min,制成松散的小球。吸去上清液,添加 1 mL 的 Dilent C 试剂,制成样品液。1 mL 的 Dilent C 试剂和 4  $\mu$ L 的 PKH26 染色剂制成工作液。快速将样品液小心注入工作液中,吹打混匀。向混合液中加入 2 mL 血清,共同孵育 1 min,终止染色。反复洗涤细胞 3 次,继续培养观察其形态变化和生长情况。

取生长状态良好的 P3 rBMSCs 和荧光标记 rBMSCs 制成单细胞悬液,调整细胞密度为  $2 \times 10^4$  个/mL,接种于 96 孔板培养。在不同的时间点随机选取 3 个培养孔,添加 CCK8 试剂 20  $\mu$ L,置于培养箱中 1 h,酶标仪检测 OD 值,绘制生长曲线图。

1.2 大鼠尾椎间盘退变模型的建立及 MRI 检测

采用针刺法进行大鼠尾椎间盘退变造模。C 臂机透视定位,18G 注射针头穿刺 Co7/8 和 Co9/10 椎间盘,针尖透至对侧皮肤,针体水平旋转 360°,停留 20 s

后拔出,Co8/9 作为空白对照。整个操作避开尾动静脉,并标记穿刺位置。术后第 2 和 4 周,在异氟烷气体麻醉下,对大鼠尾部进行矢状位 T2 加权像(T2WI)核磁共振(MRI,1.5T)扫描,获取的椎间盘 MRI 图像,所有 MRI 影像资料由两位资深放射科医师分别进行盲法阅片评估,依据改良的 Thompson 分级标准对各椎间盘退变等级进行记录。

1.3 “加味三痹汤”对 rBMSCs 体内迁移的影响

依据《标准体重动物剂量折算表》(《药理实验方法学》第四版,人民卫生出版社),以及《中药药理实验方法学》中实验用药制备方法。各组对应的中药浓度分别为(按生药量计算):高剂量组,4.4 g/mL;中剂量组,2.2 g/mL;低剂量组,1.1 g/mL。

将造模成功的大鼠(退变等级为 3 级)随机分成 A、B、C、D 共 4 组,每组 10 只。具体处理方法为:A 组,rBMSCs 移植,高剂量中药的干预;B 组,rBMSCs 移植+中剂量中药;C 组,rBMSCs 移植+低剂量中药;D 组,rBMSCs 移植+等体积纯水。连续给药 1 个月。

术后 4 h 进行小动物成像扫描,观察细胞在体内的分布情况。相关参数:荧光模式,曝光时间 1 s,射线类型 DsRed,激发光波长 535 nm,载物台位置 D。每次检测都进行拍照并留存。四周后进行 MRI 检测和病理学观察、免疫组化染色观察,检测各组椎间盘的退变情况。

2 结果

2.1 rBMSCs 鉴定和荧光标记 rBMSCs 生长曲线

密度梯度离心分离培养和染色标记的 P3 rBMSCs 光学显微镜下观察结构无异常,长梭形,聚集生长、集落分布,细胞活力好,平均每 3 d 可进行一次传代培养。倒置荧光显微镜下观察细胞发出明亮的红色亮光,强度高,高倍镜下,可见荧光均匀分布在细胞膜表面(见图 1A),随着细胞的培养传代,荧光信号强度逐渐降低,P8 rBMSCs 中仍可观察到微弱的红色荧光。

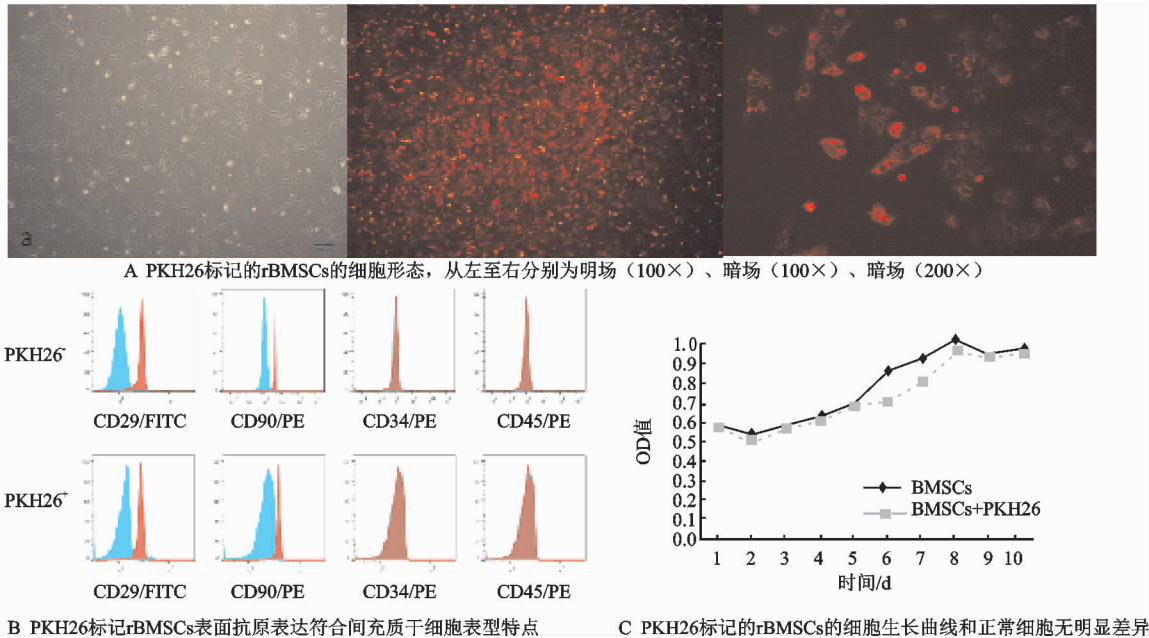


图 1 PKH26 标记的 rBMSCs 的细胞形态、表面抗原表达和细胞生长曲线

利用流式细胞仪对 rBMSCs 表面抗原进行检测, 结果发现, 经 Percoll 分离液提纯培养的 P3 BMSCs 能够表达 CD29 (阳性率 99.89%)、CD90 (阳性率 98.80%), 不表达 CD34 (阳性率 0.20%)、CD45 (阳性率 0.45%), 符合间充质干细胞表型特点。而经过 PKH26 标记的 BMSCs 仍能表达 CD29 (阳性率 94.02%)、CD90 (阳性率 93.60%), 不表达 CD34 (阳性率 4.78%)、CD45 (阳性率 5.45%), 同样符合间充质干细胞表型特点 (见图 1B)。

P3 rBMSCs (正常的和染色) CCK8 实验结果绘制增殖曲线 (见图 1C) 发现, BMSCs 从第 4 天开始进入指数生长期, 在第 8 天达到了生长高峰, 然后进入了平台期, 整体上生长曲线呈“S”形。两种细胞进入不同生长期的时间点基本一致, 在第 6~8 天, 荧光染色细

胞的生长速度要快于正常细胞, 进入平台期后都维持在一个相似的水平。流式细胞仪和 CCK8 检测结果与正常 rBMSCs 无明显差异, 说明 PKH26 对 rBMSCs 的细胞表型和增殖无明显影响, 无明显细胞毒性, 是安全可靠的染色剂。

### 2.2 大鼠尾椎间盘退变模型建立

术后根据改良的 Thompson 分级标准对造模后大鼠进行分级, 退变等级Ⅲ级的大鼠用于进一步实验, 即髓核的信号强度中度减轻, 高信号区域中度缩小, 椎间盘高度或有降低。大鼠椎间盘退变分级情况见表 1 和图 2。

表 1 椎间盘退变分级情况表 (例)

时间	I 级	II 级	III 级	IV 级
2 周	2	24	39	5
4 周	1	10	51	8

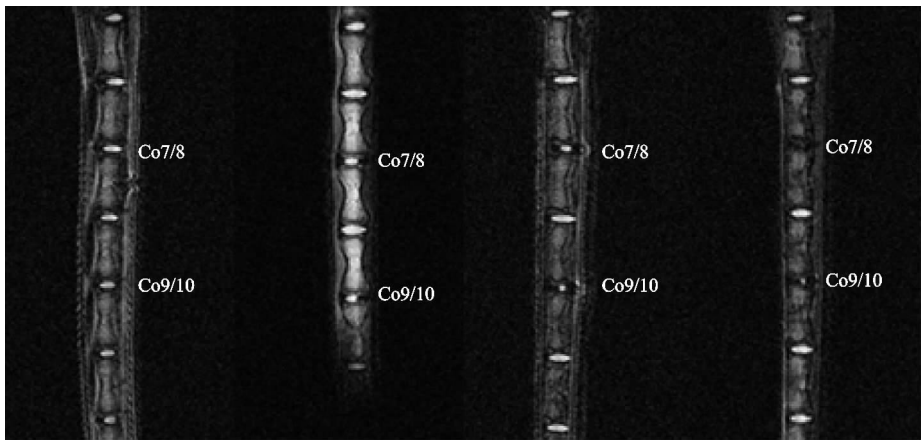


图 2 对大鼠尾椎间盘 (Co7/8, Co9/10) 造模后 MRI 检测, 椎间盘 T2WI 从左至右, 椎间盘退变级别依次为 I 级, II 级, III 级及 IV 级

### 2.3 观察归巢行为

小动物活体成像系统观察发现, 大鼠的肺部、肝脏、心脏、尾部等均有荧光信号分布, 存在归巢行为。可能是由于经静脉移植细胞存在血管沉积效应, 血管网络丰富的地方 (如肺部、肝脏等) 容易“截获”干细胞。各组大鼠尾部 (造模部位) 荧光信号随着时间的变化均出现了衰减的趋势, 中药干预组 (特别是 A

组) 的衰减比 D 组要缓慢些 (见图 3)。测量了各组的 AR 值, 经单因素方差分析发现, 各组在不同时间点的荧光强度差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 呈现递减的趋势, 在各个时间点进行比较时发现, 在第 3 天和 1 周时, 各组的 AR 值差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 在 2 周和 4 周时, 各组 AR 值的差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

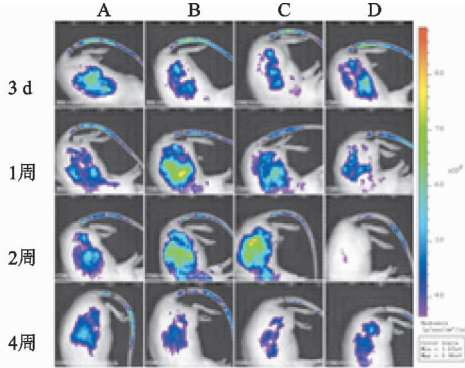


图 3 各组不同时间点荧光信号强度 ( $n=10$ )。AR 值显示各组大鼠尾部荧光信号随着时间的变化均出现了衰减的趋势, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 在 3 d 和 1 周时, 各组的 AR 值差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 在 2 周和 4 周时, 各组 AR 值差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )

### 2.4 MRI 检测结果

经过中药干预和干细胞移植后, A 组 2 只大鼠椎间盘退变程度明显改善, 髓核信号强度和面积有所增

加。B 组中有 1 只大鼠椎间盘退变程度明显加重, 髓核信号强度下降, 转变为 IV 级。C 组有 1 只大鼠椎间盘退变改善, 2 只加重; D 组有 1 只改善, 3 只加重。



2.5 组织学观测结果

退变椎间盘组织苏木精-伊红染色结果观察发现,正常的椎间盘组织内部软骨样细胞分布均匀,呈椭圆形外观,髓核结构饱满,纤维环结构完整,层次清晰呈同心圆状紧密排列,和髓核组织界限清楚。A,B 组中大部分呈现轻度退变,髓核面积减少,纤维环结构稍有紊乱,C,D 组中大部分组织呈现出中度退变的征象,髓核出现皱缩、数目减少,纤维环出现部分断裂,排列尚紧密,界限清晰(见图 4)。

2.6 蛋白多糖及Ⅱ型胶原含量

采用阿利新蓝对髓核组织进行染色,A 和 B 组轻度退变的椎间盘中蛋白多糖含量减少,染色为淡蓝色;

C 和 D 组严重退变的椎间盘蛋白多糖含量较少,基本不着色或零星分布(见图 4)。Ⅱ型胶原蛋白免疫组化染色发现,正常椎间盘中胶原排列成规则的网状,着色较深,成棕色;而退变的组织中胶原排列紊乱且减少,着色较浅(见图 4)。采用 Image-Pro Plus 6.0 软件测量他们的光密度值(见表 2, $P<0.05$ ),并对数据进行统计分析,结果显示:各组蛋白多糖含量有明显的差异,差异有统计学意义( $P<0.05$ );C 和 D 两组之间差异无统计学意义( $P>0.05$ ),其他各组间差异均有统计学意义( $P<0.05$ );而各组Ⅱ型胶原含量有明显差异,且各组间均存在明显差异,而且差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。

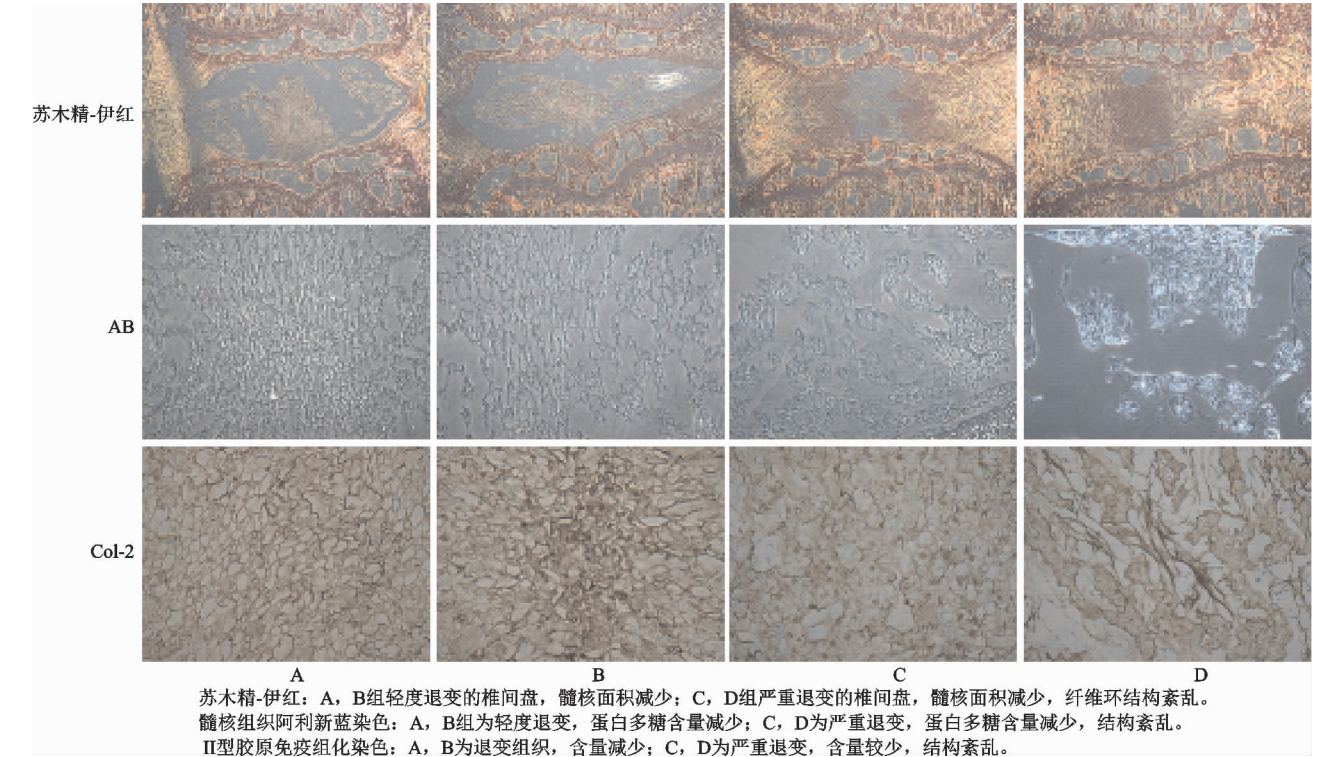


图 4 取椎间盘组织分别进行苏木精-伊红染色(40×)、阿利新蓝染色(200×)和Ⅱ型胶原蛋白免疫组化染色(400×)  
表 2 各组蛋白多糖和Ⅱ型胶原的光密度值( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

成分	A 组	B 组	C 组	D 组
蛋白多糖	0.257 7±0.028 5	0.174 1±0.015 3	0.120 7±0.014 2	0.116 8±0.016 3
Ⅱ型胶原	0.409 2±0.031 0	0.367 7±0.017 9	0.319 5±0.016 9	0.285 2±0.025 3

3 讨论

椎间盘属中医“筋”的范畴,并与“骨”相连。“肝主筋”“肾主骨”,《素问·五营运大论》曰:“肾生骨髓,髓生肝,肝生筋”;《素问·平人氣象论》指出:“藏真散于肝,肝藏筋膜之气”。由此可见筋的生理、病理状态与肝肾的功能和特性密切相关。肝血不足或肝失条达,血虚血瘀,筋膜失养;肾精亏虚,骨髓化源不足,筋骨失养是根本病机。基于上述观点,笔者从肝、肾立论治疗椎间盘退变性疾病。以“舒筋活血汤”(《伤科补要》卷三)合“独活寄生汤”(《备急千金要方》卷八)两方加减化裁“加味三痹汤”,取“舒筋活血汤”活血益肝舒筋之理并“独活寄生汤”补肾强脊坚骨之论,共奏补肾益肝、养血活血、舒筋养筋之效。全方主要由续断、杜仲、狗

脊、独活、怀牛膝、川芎、当归、丹参、延胡索、黄芪、甘草等药物组成。诸药合用,共奏补肾益肝,养血活血,舒筋养筋之效。临床应用“加味三痹汤”治疗椎间盘退变疾病,疗效满意<sup>[7,8]</sup>,且实验研究发现“加味三痹汤”具有延缓甚至修复 IVDD 的作用<sup>[9,10]</sup>。

对于椎间盘退行性疾病,依据不同的阶段治疗方法包括:理疗、药物、介入、微创或融合手术,这些治疗方式能够较好的消除症状,但无法修复椎间盘,阻止椎间盘退变。椎间盘损伤无有效修复,是导致治疗后症状反复,甚至再手术的主要原因,是临床亟待解决的问题。探索有效修复椎间盘、恢复其完整性的治疗手段迫在眉睫。当组织受到创伤、劳损或化学刺激时,休眠的内源性干细胞即被唤醒,进而迁移,向损伤部位归

巢,参与修复。生长因子、药物分子可以促进此过程<sup>[11]</sup>,如促红细胞生成素和粒细胞集落刺激因子,能激活造血前体细胞促红细胞形成<sup>[12]</sup>;甲状腺激素促进前体干细胞促骨形成<sup>[13]</sup>。TGF- $\beta$ 和GDF-5具有促进间充质干细胞(Mesenchymal Stem Cells, MSCs)向类髓核细胞分化的能力<sup>[14]</sup>。辛伐他汀可以通过促进缺氧诱导因子的表达调节MSCs向髓核细胞的分化从而修复椎间盘<sup>[15]</sup>。损伤、退变的椎间盘由于长期的慢性损耗,自身局部具备再生潜能的椎间盘源性干细胞受到了很大程度的影响,甚至已损耗殆尽,外周循环内的MSCs是椎间盘损伤修复的主力军。椎间盘退变过程中血管、神经长入为MSC的归巢提供了途径。此过程受到PI-3K/AKT<sup>[16]</sup>, MAPK<sup>[17]</sup>和NF- $\kappa$ B<sup>[18]</sup> MSC迁移相关通路,及Notch<sup>[19]</sup>, MAPK<sup>[20]</sup>, NF- $\kappa$ B<sup>[18]</sup>, Smad<sup>[20]</sup>等MSCs分化相关通路的调节。但由于归巢于退变椎间盘的MSCs数量极少, MSCs发挥的作用极为有限,因此提高干细胞归巢的效率显得相当迫切。

本次实验笔者采用干细胞注射的方法,采用MRI、小动物活体成像技术,观察“加味三痹汤”对rBMSCs归巢修复椎间盘的影响。在小动物活体成像系统中,笔者观察到了荧光标记的干细胞在心脏、肺以及退变的椎间盘组织聚集的现象,再一次证实了rBMSCs在椎间盘退变模型中存在迁移和归巢行为。但是这在前期(3天和1周)A、B、C及D四组中无明显差异的AR值,说明实验前期中药的干预作用对迁移和归巢的rBMSCs数量无明显影响。虽然A组和B组的AR值比D组高,但整体信号强度不高,差异没有统计学意义。可能是由于脉管系统对植入细胞的沉积效应,同时椎间盘缺乏血管的生理学特点、纤维环破坏后血管损伤的病理特点也极大限制了rBMSCs的迁移和归巢途径,导致能够迁移到退变椎间盘的细胞数量较少,信号强度不高;同时实验大鼠自身的骨髓间充质干细胞可能对早期实验结果有一定影响。但在实验中后期,各组的AR值出现了显著性的差异,可能是由于实验大鼠自身的骨髓间充质干细胞消耗后,中药能够促进移植的干细胞归巢并维持其数量,同时MRI观察发现能够延缓或抑制椎间盘退变,甚至还观察到了逆转椎间盘退变的个别情况。组织学分析中,笔者通过实验发现,“加味三痹汤”联合干细胞移植能够更好地提高椎间盘组织中蛋白多糖和Ⅱ型胶原的含量。但在低剂量中药的C组和D组中蛋白多糖的含量未出现显著性差异,说明中药需要达到一定的药效浓度才能体现出其显著的治疗效果,从而rBMSCs在椎间盘组织中存活时间更久、对椎间盘组织的再生和修复能力更强。

## 参考文献

- [1] LOZANO R, NAGHAVI M, FOREMAN K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the global burden of disease study 2010[J]. Lancet, 2012, 380(9859): 2095-2128.
- [2] RISBUD M V, SHAPIRO I M. Role of cytokines in intervertebral disc degeneration; pain and disc content[J]. Nat

Rev Rheumatol, 2014, 10(1): 44-56.

- [3] ILLIEN-JÜNGER S, PATTAPPA G, PEROGLIO M, et al. Homing of mesenchymal stem cells in induced degenerative intervertebral discs in a whole organ culture system[J]. Spine(Phila Pa 1976), 2012, 37(22): 1865-1873.
- [4] 王彦超, 邓蓉蓉, 叶亚东, 等. 补肾活血舒筋方含药血清对大鼠骨髓间充质干细胞增殖、迁移的影响及其机制[J]. 山东医药, 2017, 5(16): 38-40.
- [5] 赵海滨, 李晔紫, 师伟, 等. 活血化瘀法对急性心肌梗死大鼠骨髓干细胞动员入血及定向归巢影响实验研究[J]. 慢性病学杂志, 2015, 16(3): 301-304.
- [6] 许敬人, 詹红生. 椎间盘退变机制及中药对其的干预作用[J]. 临床和实验医学杂志, 2015, 14(19): 1657-1660.
- [7] 强东坤, 邓蓉蓉, 顾军, 等. 脊伸痹通方联合西乐葆治疗腰椎间盘突出症临床观察[J]. 西部中医药, 2018, 31(5): 90-92.
- [8] 强东坤, 邓蓉蓉, 顾军. 从气血、肝肾论治腰椎间盘突出症经验撷粹[J]. 江苏中医药, 2018, 50(2): 20-21.
- [9] 张仕兵, 谢林, 康然, 等. 全内窥镜下椎板间隙技术配合补肾活血舒筋方治疗腰椎间盘突出症 55 例疗效分析[J]. 实用中西医结合临床, 2016, 16(8): 47-48.
- [10] 谢林, 康然, 刘彬彬, 等. 康颈颗粒对大鼠颈椎间盘细胞凋亡的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(31): 3800-3801.
- [11] ZARUBA M M, THEISS H D, VALLASTER M, et al. Synergy between CD26/DPP-IV inhibition and G-CSF improves cardiac function after acute myocardial infarction[J]. Cell Stem Cell, 2009, 4(4): 313-323.
- [12] WAGERS A J. The stem cell niche in regenerative medicine[J]. Cell Stem Cell, 2012, 10(4): 362-369.
- [13] SAKAI D, ANDERSSON G B. Stem cell therapy for intervertebral disc regeneration: obstacles and solutions[J]. Nat Rev Rheumatol, 2015, 11(4): 243-256.
- [14] GILBERT H T, HOYLAND J A, RICHARDSON S M. Stem cell regeneration of degenerated intervertebral discs: current status (update) [J]. Curr Pain Headache Rep, 2013, 17(12): 377.
- [15] HUANG Z, ZHANG L, TENG X, et al. A new in vivo method to retard progression of intervertebral disc degeneration through stimulation of endogenous stem cells with simvastatin[J]. Med Hypotheses, 2017, 32(101): 65-66.
- [16] 王倩, 补阳还五汤对大鼠急性脑缺血后神经干细胞迁移的影响[J]. 山东中医杂志, 2013(10): 742-744.
- [17] 郭占鹏, 刘堃, 黄米娜, 等. 补阳还五汤对大鼠肌源性干细胞体外生长分化的影响[J]. 中成药, 2015, 37(9): 2049-2051.
- [18] CHEN T, WANG J, LIU M, et al. Screening of natural compounds with neuronal differentiation promoting effects in a cell-based model[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2015, 13(8): 602-608.
- [19] XU Y, DAIG J, DAI G J, LIU Q, et al. Effect of ermiao srecipe with medicinal guide angelicae pubescentis radix on promoting the homing of bone marrow stem cells to treat cartilage damage in osteoarthritis rats[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2014, 20(8): 600-609.
- [20] MAZAKI T, KITAJIMA T, SHZOZAKI Y, et al. In vitro and in vivo enhanced osteogenesis by kaempferol found by a high-throughput assay using human mesenchymal stromal cells[J]. Journal of Functional Foods, 2014, 6(1): 241-247.

(收稿日期: 2019-01-04)