

睡眠干扰调控 5-羟色胺 2A 受体表达抑制动物骨骼增长的机制及 miRNA 筛选研究

卢承印^{1,2} 吕艳艳¹ 谢艳¹

[摘要] **目的:**研究 5-羟色胺 2A 受体在睡眠干扰中抑制动物骨骼增长的作用并筛选靶向 5-羟色胺 2A 受体调控其表达的 miRNA。**方法:**通过对小鼠进行睡眠干扰,观察其对小鼠体长增长、5-羟色胺 2A 受体表达、生长激素分泌的影响;同时通过对大鼠进行睡眠干扰,测量其对大鼠慢波睡眠、异相睡眠等各类睡眠时长的影响;采用芯片法筛选睡眠干扰后引起小鼠体长差异表达的 miRNA,利用 RnaDB 网站筛选调节 5-羟色胺 2A 受体表达的 miRNA,对得到的两组 miRNA 进行比较,得到重合的 miRNA 并进行 qRT-PCR 验证,从而筛选出通过对睡眠干扰引起 5-羟色胺 2A 受体高表达抑制动物骨骼增长的 miRNA。**结果:**睡眠干扰 20 d 后,明显抑制小鼠体长增长,同时显著增加小鼠脑组织 5-羟色胺 2A 受体表达,降低体内生长激素分泌,与空白对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。同时,睡眠干扰能明显减少大鼠慢波睡眠和总睡眠时长($P < 0.05$),但在异相睡眠时长上无明显影响($P > 0.05$)。在 miRNA 筛选研究方面,芯片法共获得 16 个符合差异倍数的 miRNA,其中表达上调 13 个,表达下调 3 个,利用 RnaDB 网站筛选与芯片法筛选重合的 miRNA 为 miR-200c-3p,对其进行 qRT-PCR 法验证结果显示其确能引起睡眠干扰组与空白对照组差异表达,因此 miR-200c-3p 可能为睡眠干扰引起 5-羟色胺 2A 受体高表达进而抑制动物骨骼增长的核心靶点之一。**结论:**睡眠干扰能够抑制动物骨骼增长,其机制可能与睡眠干扰引起 5-羟色胺 2A 受体高表达,导致慢波睡眠减少,从而降低生长激素分泌有关,通过 miRNA 筛选及 qRT-PCR 验证显示,miR-200c-3p 可能是其核心靶点之一。

[关键词] 睡眠干扰;慢波睡眠;生长激素;骨骼增长;5-羟色胺

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2022)03-0007-05

Research of Sleep Disturbance Regulates 5-HT_{2A} Receptor Expression to Inhibit Animal Bone Growth Mechanism and miRNA Screening

LU Chengyin^{1,2} LYU Yanyan¹ XIE Yan¹

¹ Luoyang Orthopedic-Traumatological Hospital of Henan Province, Luoyang 471002, Henan China;

² Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China.

Abstract Objective: To study the efficacy of 5-hydroxytryptamine (5-HT) 2A receptors in inhibiting bone growth in animals during sleep disturbance and to screen miRNA that target 5-HT_{2A} receptors to regulate their expression. **Methods:** The efficacy on the growth of mouse body length, 5-HT_{2A} receptor expression and growth hormone secretion was observed after sleep disturbance in mice, meanwhile, through sleep disturbance in rats. Its efficacy on rat slow-wave sleep and the influence of various types of sleep duration, such as heterogeneous sleep was measured were detected, the chip method was used to screen the miRNA that caused differential expression of mouse body length after sleep interference, and the RnaDB website was used to screen the miRNA that was regulated to the expression of 5-HT_{2A} receptors. For comparison, the overlapping miRNA were obtained and verified by qRT-PCR, so as to screen out miRNA that inhibited the growth of animal bones by causing high expression of 5-HT_{2A} receptors by disturbing sleep. **Results:** The body length growth of mice was significantly inhibited after sleep disturbance for 20 d. At the same time, the expression of 5-HT_{2A} receptor in the brain tissue of mice was significantly increased, and the secretion of growth hormone in the body was reduced.

Compared with the blank control group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). At the same time, the slow-wave sleep and total sleep duration of rats significantly reduced by sleep disturbance ($P < 0.05$),

but it has no significant efficacy on the duration of paradoxical sleep ($P > 0.05$). In terms of miRNA screening research, a total of 16 miRNA with different multiples were obtained by the chip method, of which 13 were up-regulated in expression and 3 were down-regulated. The verification results of qRT-PCR method showed that differential expression can be indeed caused between the sleep disturbance group and the blank control group. Therefore, miR-200c-3p may be one of the core targets for sleep disturbance to cause high expression of 5-HT_{2A} receptors and inhibited animal bone growth. **Conclusion:** Bone growth is inhibited by sleep disturbance in animals. The mechanism may be related to sleep disturbance causing high expression of 5-HT_{2A} receptors, leading to reduced slow-wave sleep, thereby reducing growth hormone secretion. miRNA screening and qRT-PCR verification show miR-200c-3p may be one of its core targets.

Keywords: sleep disturbance; slow wave sleep; growth hormone; bone growth; 5-hydroxytryptamine (5-HT)

儿童身高增长主要取决于生长激素(Growth Hormone, GH)的分泌^[1], GH的分泌主要在慢波睡眠(Slow Wave Sleep, SWS)期间^[2]。而SWS的启动与延长与5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)有关^[3], 笔者前期的实验研究发现, 通过药物提高5-HT_{1A}受体的表达能够增加其与5-HT结合, 延长SWS的时间, 促进GH分泌, 从而达到促进骨骼增长的目的^[4-7]。而5-HT_{2A}受体与5-HT_{1A}受体同样作为5-HT亚型受体, 有研究表明在药物引起的慢性睡眠延长过程中, 5-HT_{2A}受体与睡眠时长成负相关^[8]。5-HT_{2A}受体作为一种蛋白质受microRNA(miRNA)调控, 因此, 本研究对睡眠干扰引起5-HT_{2A}受体高表达抑制动物骨骼增长的现象进行验证, 同时筛选睡眠干扰引起5-HT_{2AR}差异表达的miRNA, 为多靶点调控骨骼增长提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 20只SPF级小鼠, 雄性, 25 d龄, 体重15~17 g, 动物许可证号SCXK(豫)2015-0001, 12只SPF级大鼠, 雄性, 体重200~250 g, 动物许可证号SCXK(豫)2015-0001; 均由河南省实验动物中心提供。动物饲养环境温度20~24℃, 湿度50%~70%, 12 h明暗交替, 噪音<50 dB。

1.1.2 药物与试剂 小鼠5-HT_{2AR} ELISA试剂盒(上海纪宁实业有限公司, 批号为201510), RNA提取液(武汉谷歌生物科技有限公司, 货号G3013), 三氯甲烷(国药集团化学试剂有限公司, 货号10006818), 异丙醇(国药集团化学试剂有限公司, 货号80109218), 无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司, 货号10009218), HyPure TMMolecular Biology Grade Water(HyClone公司, 货号SH30538.02), RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit(Thermo公司, 货号K1622), FastStart Universal SYBR Green Master(Rox)(Roche公司, 货号04 913 914 001)

1.1.3 仪器 荧光定量PCR仪(ABI公司, 美国, 型号Stepone Plus), 超微量分光光度计(Thermo公司,

美国, 型号NanoDrop2000), 台式高速冷冻型微量离心机(DragonLab公司, 美国, 型号D3024R), 酶标仪(Labsystems Multiskan MS, 芬兰, 352型)。

1.2 方法

1.2.1 睡眠干扰对小鼠骨骼增长及对5-HT_{2A}受体表达与血清GH的影响 同一时期出生的10胎小鼠, 每胎2只随机分到2组, 分别为空白对照组和睡眠干扰组, 每组10只。分组后首次测量原始体长, 2组小鼠原始体长差异无统计学意义。适应环境1周后开始分开饲养, 在两个独立的相邻的条件相同的饲养间。空白对照组不予处理, 睡眠干扰组使用闹钟定点报时, 每2 h闹铃干扰1次, 每次持续1 min, 于干扰后第20天分别麻醉两组小鼠, 用直尺测定小鼠体长, 从头部最顶端到小鼠臀尾交接处即为小鼠体长, 精确到1 mm。随后眼眶取血, 于室温下待血液自然凝固20 min, 以3 000 r/min转速离心20 min, 收集上清液; 取脑组织, 加入9倍PBS液体, 在冰浴上匀浆, 以3 000 r/min转速离心20 min, 收集上清液, 随后采用ELISA试剂盒测定脑组织5-HT_{2A}受体水平和血清GH水平。

1.2.2 睡眠干扰对大鼠觉醒期、慢波睡眠、异相睡眠及总睡眠时长的影响 由于小鼠体积较小, 无法固定小米手环从而测量其睡眠时长, 因此实验选用大鼠进行, 将12只大鼠随机分为2组, 每组各6只, 分别为空白对照组和睡眠干扰组, 将小米手环3使用透明胶带固定于大鼠颈部, 每个手环连接1部安装有小米运动软件的手机。空白对照组不予处理, 睡眠干扰组使用闹钟定点报时, 每2 h闹铃干扰1次, 每次持续1 min, 于干扰后第20天, 取下小米手环, 通过关联手机查询大鼠各类型睡眠时长平均时间。

1.2.3 睡眠干扰抑制骨骼增长小鼠与正常小鼠脑组织差异表达miRNA的筛选 挑选小鼠睡眠干扰实验中来源于同一胚胎原10对小鼠中体长差异最大的4对小鼠, 取其脑组织(小鼠处死后10 min内取材料并保存好), 组织块以PBS清洗干净, 在冰浴上每50 mg组织加2 mL左右Trizol溶液彻底匀浆裂解组织样品。芯片法检测差异表达的miRNA, Agilent小鼠

miRNA 微阵列目录来源于 miRBase 数据库 v21.0,靶向 1 881 个小鼠的 miRNA,样品标记和芯片杂交根据 Agilent miRNA Microarray Systemwith miRNA Complete Labeling and Hyb Kit 实验方案(Agilent Technology)执行,具体步骤为:1)来自每个样品的 miRNA 在 T4 RNA ligase 作用下用 Cyanine 3-pCp 标记;2)标记产物浓缩干燥后用水重溶;3)芯片杂交;4)杂交芯片被洗涤,固定并扫描(Agilent Microarray Scanner(part number G2505C))。收集所有睡眠干扰组倍数变化值(FC)≥1.5,且 $P<0.05$ 的差异表达 miRNA,建立差异表达 miRNA 库。

1.2.4 利用 RnaDB 网站预测所有调节 5-HT2A 受体的 miRNA 根据 RnaDB 网站提示进行检索所有能够上调或下调 5-HT2A 受体的 miRNA 并进行记录。

1.2.5 以 5-HT2A 受体为靶基因的 miRNA 的 qRT-PCR 验证 根据 RnaDB 网站中预测得到能够调节 5-HT2A 受体的 miRNA 与芯片法筛选得到对动物骨骼增长产生影响的 miRNA 库进行比较,得到相重合的 miRNA 进行 qRT-PCR 验证。采用 Trizol 试剂一步法提取小鼠脑组织细胞总 RNA,并用紫外分光光度计测定提取的 RNA 浓度及通过 D(260)/D(280)比值检测 RNA 的纯度。按照 miScript II RT Kit 反转录试剂盒说明书进行操作,以提取的 RNA 为模板反转录成 cDNA。用所得 cDNA 为模板进行实时聚合酶链反应,引物序列见表 1。每个标本都用 U6 做内参照,反应体积 20 μ L,反应条件:5 $^{\circ}$ C 预变性 20 s,95 $^{\circ}$ C 变性 10 s,60 $^{\circ}$ C 变性 20 s,70 $^{\circ}$ C 延伸 10 s,4 $^{\circ}$ C 保存。溶解曲线:95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 1 min,95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 15 s,共 40 个循环。

表 1 miRNA 及内参引物序列

基因	双向引物序列
U6	L:5'GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT3'
	R:5'CGCTTCACGAATTTGCGTGTCTAT3'
mmu-miR-200c-3p	L:5'UAAUACUGCCGGGUAAGAUGGA3'
	R:5'CAUCAUUACCCGGCAGUAUUAUU3'

1.3 统计学方法

采用 SPSS21.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验, $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 睡眠干扰对小鼠体长的影响

睡眠干扰 20 d 后,空白对照组小鼠体长明显长于睡眠干扰组,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 2 及图 1。

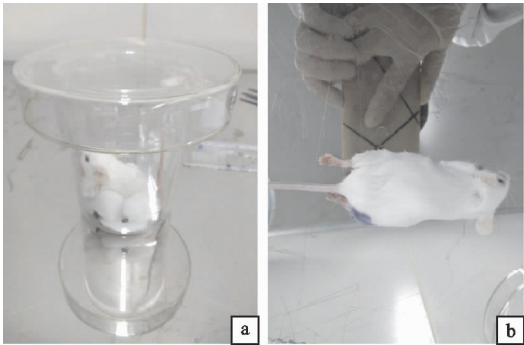
2.2 睡眠干扰对脑组织 5-HT2A 受体的影响

睡眠干扰 20 d 后睡眠干扰组脑组织 5-HT2A 受体

表达明显增高,高于空白对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3 及图 2。

表 2 睡眠干扰对小鼠体长的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数/只	体长/cm
空白对照组	10	10.25±0.38
睡眠干扰组	10	9.57±0.38
t		3.996
P		0.001



(a) 使用乙醚对小鼠进行麻醉;(b) 小鼠麻醉后测量体长,测量范围从头部最顶端到小鼠臀尾交接处

图 1 测量小鼠体长

表 3 睡眠干扰对小鼠 5-HT2A 受体的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数/只	5-HT2A 受体/(ng·mL ⁻¹)
空白对照组	10	31.86±12.69
睡眠干扰组	10	44.46±11.52
t		2.325
P		0.032

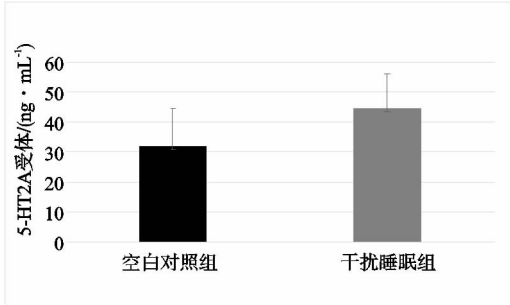


图 2 ELISA 法检测两组 5-HT2A 受体含量

2.3 睡眠干扰对血清 GH 的影响

睡眠干扰 20 d 后空白对照组脑组织血清 GH 表达明显增高,高于睡眠干扰组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4 及图 3。

表 4 睡眠干扰对小鼠血清 GH 的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数/只	血清 GH/(ng·mL ⁻¹)
空白对照组	10	44.32±6.75
睡眠干扰组	10	39.05±3.98
t		2.130
P		0.047

2.4 睡眠干扰对大鼠觉醒期、慢波睡眠、异相睡眠及总睡眠时长的影响

睡眠干扰 20 d 后,空白对照组与睡眠干扰组各类

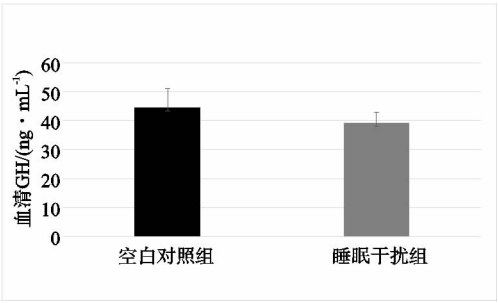


图3 ELISA法检测两组血清GH含量

表5 睡眠干扰对大鼠觉醒期、慢波睡眠、异相睡眠及总睡眠时长的影响(±s, min)

组别	W期	SWS期	PS期	TS期
空白对照组	160.17±20.79	150.83±13.18	49.0±14.64	199.83±20.79
睡眠干扰组	182.33±9.73	131.83±13.23	45.83±8.23	177.67±9.73
<i>t</i>	2.366	2.492	0.462	2.366
<i>P</i>	0.040	0.032	0.654	0.040

注:W期即觉醒期;SWS期即慢波睡眠期;PS期即异相睡眠期;TS期即总睡眠期。

表6 基因芯片筛选出的符合要求的差异表达miRNA

miRNA	差异倍数	<i>P</i>
mmu-miR-1843a-3p	12.86	0.034
mmu-miR-3075-5p	12.86	0.034
mmu-miR-344f-5p	12.52	0.024
mmu-miR-6407	12.52	0.024
mmu-miR-1907	12.46	0.026
mmu-miR-7217-5p	12.46	0.026
mmu-miR-5131	7.95	0.040
mmu-miR-7225-5p	2.47	0.015
mmu-miR-1a-3p	1.64	0.032
mmu-miR-34a-5p	1.62	0.005
mmu-miR-7006-5p	1.61	0.009
mmu-miR-133a-3p	1.55	0.034
mmu-miR-135b-5p	1.54	0.023
mmu-miR-200c-3p	0.10	0.022
mmu-miR-7a-2-3p	0.42	0.018
mmu-miR-7b-3p	0.49	0.021

2.6 利用 RnaDB 网站考查筛选的 miRNA 与 5-HT2A 受体结合能力

因为睡眠干扰后小鼠 5-HT2A 受体高表达,所以观察影响 5-HT2A 受体表达并在睡眠干扰组中下调的 miRNA。主要考察 miR-200c-3p、miR-7a-2-3p、miR-7b-3p,RnaDB 网站考查结果显示 miR-200c-3p 与 5-HT2A 受体有很好的结合性。因采用芯片法筛选的 miRNA 中包括 miR-200c-3p,且其在干扰睡眠的小鼠脑组织内下调,可能引起 5-HT2A 受体在睡眠被干扰后小鼠脑组织内高表达,因此确定 miR-200c-3p 为优选的 miRNA。

2.7 以 5-HT2A 受体为靶基因的 miRNA 的 qRT-PCR 验证

qRT-PCR 法验证 miR-200c-3p 在睡眠干扰组和

型睡眠时长比较,空白对照组慢波睡眠时长和总睡眠时长明显高于睡眠干扰组,空白对照组觉醒时间低于睡眠干扰组,异相睡眠时长两组无明显差异(见表 5)。

2.5 睡眠干扰抑制骨骼增长的小鼠与普通小鼠脑组织差异表达 miRNA 的筛选

采用芯片法共筛选出筛选出表达上调的 miRNA 有 420 个,表达下调的 miRNA 453 个。符合差异倍数≥1.5,*P*<0.05 的差异表达 miRNA 共 16 个,其中表达上调 13 个,表达下调 3 个,见表 6。

空白对照组差异表达, RNA 的纯度结果显示 D(260)/D(280) 比值介于 1.8~2.0 之间,说明提取的 RNA 合格。qRT-PCR 结果显示睡眠干扰组 miR-200c-3p 的表达较空白对照组明显降低,差异有统计学意义(*P*<0.01),见表 7。

表7 qRT-PCR 法测定睡眠干扰组和空白对照组 miR-200c-3p 表达(±s)

组别	鼠数/只	miR-200c-3p
空白对照组	4	0.22±0.70
睡眠干扰组	4	0.13±0.21
<i>t</i>		2.672
<i>P</i>		0.037

3 讨论

生长激素是促进人体生长的第一要素,而生长激素缺乏也是矮小症的最常见病因,可占 21.99%~44.05%^[9],如何保证生长激素达到正常状态,对生长期儿童显得十分重要。目前临床上对生长激素缺乏症和特发性矮小症儿童的主要治疗手段就是注射生长激素^[10],但生长激素疗法存在的问题是费用昂贵,因此临床上一直在寻找可替代的治疗方法。生长激素的分泌受多种因素的影响,但主要与睡眠有关,有研究表明慢波睡眠是释放生长激素的必要条件^[11],而慢波睡眠的启动和 5-羟色胺有关^[7]。有研究显示 5-HT1A 受体与 2-HT2A 受体激动后分别表现为去极化和超极化,两种受体的作用相反,小剂量的 5-HT1A 受体激动剂与 5-HT2A 受体拮抗剂具有协同作用,均能够增加睡眠时间,减少觉醒时间^[12]。而作为色氨酸羟化酶抑制剂能够阻断 5-HT 合成的对氯苯丙氨酸,也被广泛应用于动物失眠模型的造模当中^[13]。因此通过药物调控提高 5-HT1A 受体或降低 5-HT2A 受体表达,从而增加慢波睡眠时间,促进生长激素分泌,成为临床促进骨骼增长的

方法之一^[14]。本研究的结果显示,睡眠干扰对生长期小鼠体长有明显影响,干扰组 20 d 后小鼠体长小于空白对照组,通过检测小鼠脑组织 5-HT_{2A} 受体与血清 GH 发现,睡眠干扰组小鼠 5-HT_{2A} 受体含量明显高于空白对照组,血清 GH 含量则低于空白对照组。对睡眠干扰大鼠各类型睡眠时长分析发现,睡眠干扰组大鼠慢波睡眠时长明显减少,而异相睡眠时长影响不显著。可能原因是睡眠干扰组大鼠会因为过于疲乏也会在每次响铃之间入睡,但慢波睡眠是睡眠开始后一定时期才开始,所以睡眠干扰组大鼠进入慢波睡眠的时间明显减少。因此,笔者认为睡眠干扰抑制骨骼增长的机制可能是 5-HT_{2A} 受体高表达,缩短慢波睡眠时长,从而降低生长激素分泌,最终抑制动物骨骼增长。

在 miRNA 筛选研究上,通过芯片法检测共获得 16 个符合能够引起动物体长变化且符合差异倍数的 miRNA,其中表达上调 13 个,表达下调 3 个,同时利用 RnaDB 网站筛选得到重合的 miRNA 为 miR-200c-3p,对其进行 qRT-PCR 法验证,结果显示其确能引起睡眠干扰组与空白对照组差异表达,因此 miR-200c-3p 可能为睡眠干扰引起 5-HT_{2A} 受体高表达进而抑制动物骨骼增长的核心靶点之一,这也为后续多靶点调控骨骼增长提供了实验依据。

综上所述,本研究结果显示睡眠干扰能够抑制动物骨骼增长,其机制可能与睡眠干扰引起 5-羟色胺 2A 受体高表达,导致慢波睡眠减少,从而降低生长激素分泌有关,通过 miRNA 筛选及 qRT-PCR 验证,显示 miR-200c-3p 可能是其核心靶点之一。

参考文献

- [1] BINDER G, LEHRMAN T J, HOFFMANN E, et al. Adolescent boys with constitutional delay of growth and puberty grow faster than patients with organic growth hormone deficiency[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2021, 94(2): 237-241.
- [2] VAN CAUTER E, PLAT L. Physiology of growth hormone secretion during sleep[J]. J Pediatr, 1996, 128(5 Pt

2): S32-S37.

- [3] MURILLO-RODRIGUEZ E, DI MARZO V, MACHADO S, et al. Role of N-arachidonoyl-serotonin (AA-5-HT) in sleep-wake cycle architecture, sleep homeostasis, and neurotransmitters regulation[J]. Front Mol Neurosci, 2017, 10: 152.
- [4] 谢艳, 张云芳, 薛彩霞, 等. 酸枣仁提取物与柴胡提取物促进动物身高增高的作用比较研究[J]. 中医药导报, 2018, 24(16): 65-68.
- [5] 陈晓霞, 谢艳, 王一方, 等. 酸枣仁提取物与酸枣仁皂苷 A 促进骨骼增高作用比较研究[J]. 中医学报, 2019, 34(8): 1719-1722.
- [6] 谢艳, 张云芳, 郭云鹏, 等. 柴胡提取物改善慢波睡眠促进动物增高机制的实验研究[J]. 山东中医杂志, 2018, 37(5): 412-415.
- [7] 谢艳, 张云芳, 孙墨渊, 等. 酸枣仁提取物促进慢波睡眠引起身体增高的实验研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2018, 13(6): 798-801.
- [8] 李家豪, 郭晓玲, 张如意, 等. 酸枣仁汤对慢性睡眠剥夺老年失眠大鼠下丘脑 5-HT 及其受体表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(3): 530-532.
- [9] 武苏, 汪素美, 朱子阳, 等. 2132 例矮小症患者病因及骨龄分析[J]. 临床儿科杂志, 2015, 33(8): 730-733.
- [10] 王秋兰. 重组人生长激素对儿童生长激素缺乏症和特发性矮小症的效果评价[J]. 中国实用医药, 2020, 15(7): 167-169.
- [11] GOHIL A, EUGSTER E. Growth hormone deficiency and excessive sleepiness: a case report and review of the literature[J]. Pediatr Endocrinol Rev, 2019, 17(1): 41-46.
- [12] 张美娅, 王平, 丁莉, 等. 睡眠及睡眠剥夺与 5-羟色胺及其受体的相关性探讨[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(4): 805-807.
- [13] 郭海波, 王慧. 对氯苯丙氨酸在动物失眠模型中的应用概述[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(6): 135-140.
- [14] 谢艳, 张云芳, 宁桃丽, 等. 酸枣仁提取物调控 cAMP-PKA 通路促进小鼠体长增长及大鼠慢波睡眠的机制研究[J]. 上海中医药杂志, 2021, 55(5): 77-83.

(收稿日期: 2021-09-04)

(上接第 6 页)

- [15] HAN H, LIU L. Long noncoding RNA TUG1 regulates degradation of chondrocyte extracellular matrix via miR-320c/MMP-13 axis in osteoarthritis[J]. Open Life Sci, 2021, 16(1): 384-394.
- [16] LIAO C R, WANG S N, ZHU S Y, et al. Advanced oxidation protein products increase TNF- α and IL-1 β expression in chondrocytes via NADPH oxidase 4 and accelerate cartilage degeneration in osteoarthritis progression[J]. Redox Biol, 2020, 28: 101306.
- [17] 汪晓河, 马明华, 张婧婷, 等. 中药夏枯草药用概况[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(5): 625-632.

- [18] WANG S J, WANG X H, DAI Y Y, et al. Prunella vulgaris: a comprehensive review of chemical constituents, pharmacological effects and clinical applications[J]. Curr Pharm Des, 2019, 25(3): 359-369.
- [19] 黄勇, 朱伟民, 陆伟, 等. 三磷酸鸟苷酶相关蛋白激酶在骨关节炎的研究进展[J]. 中华关节外科杂志(电子版), 2020, 14(6): 717-721.
- [20] DENG Z, JIA Y, LIU H, et al. RhoA/ROCK pathway: implication in osteoarthritis and therapeutic targets[J]. Am J Transl Res, 2019, 11(9): 5324-5331.

(收稿日期: 2021-08-29)