

独活寄生汤调控软骨细胞氧化应激延缓 大鼠膝骨关节炎软骨退变

董家赫¹ 田勇¹ 王孝辉² 谢艳² 张海龙² 尚万山²

[摘要] 目的:观察独活寄生汤对外科手术诱导的膝骨关节炎(KOA)模型大鼠软骨细胞的保护作用并探讨其与软骨细胞氧化应激的关系。方法:将 40 只 SPF 级 SD 雌性大鼠随机分为空白组、模型组、实验组和对照组,每组各 10 只,除空白组大鼠外均采用改良的 Hulth 法制备膝骨关节炎模型,空白组以同样的方法打开关节腔不做任何处理,术后缝合关节腔。术后 4 周实验组给予中药独活寄生汤 9.3 g/(kg·d)灌胃,空白组和模型组给予等量的生理盐水灌胃,对照组给予铁死亡抑制剂(Ferrostatin-1) 2 mg/(kg·d)关节腔注射,连续用药 12 周。苏木精-伊红(HE)染色观察各组大鼠膝关节软骨组织形态并进行 Mankin 量化评分;比色法检测各组大鼠血清中丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH)含量;蛋白免疫印迹法(Western Blot)检测各组大鼠膝关节软骨组织中上游信号抑癌基因(P53)、溶质载体家庭 7 成员 11(SLC7A11)、谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)和基质金属蛋白酶 13(MMP-13)蛋白表达。结果:与空白组比,模型组大鼠膝关节软骨病理损伤明显,Mankin 评分升高,血清中 MDA 含量升高,差异有统计学意义($P<0.05$);SOD 和 GSH 含量降低,差异有统计学意义($P<0.05$);软骨组织中 P53 和 MMP-13 蛋白升高,差异有统计学意义($P<0.05$);SLC7A11 和 GPX4 蛋白降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比,实验组和对照组大鼠膝关节软骨病理损伤改善,Mankin 评分降低,血清中 MDA 含量降低,差异有统计学意义($P<0.05$);SOD 和 GSH 含量升高,差异有统计学意义($P<0.05$);软骨组织中 P53 和 MMP-13 蛋白降低,差异有统计学意义($P<0.05$);SLC7A11 和 GPX4 蛋白升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论:独活寄生汤可以通过调控软骨细胞氧化应激和细胞铁死亡对膝骨关节炎模型大鼠软骨产生保护作用,其机制可能是通过调控 P53/SLC7A11/GPX4 通路抑制软骨细胞凋亡,从而延缓膝骨关节炎的软骨退变。

[关键词] 独活寄生汤;骨关节炎;氧化应激;铁死亡

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2024)05-0009-05

DOI:10.20085/j.cnki.issn1005-0205.240502

Study of the Duhuo Jisheng Decoction in Delaying Cartilage Degeneration of Knee Osteoarthritis in Rats by Regulating the Chondrocyte Ferroptosis Activation Effect

DONG Jiahe¹ TIAN Yong¹ WANG Xiaohui² XIE Yan² ZHANG Hailong² SHANG Wanshan²

¹ Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;

² Luoyang Orthopedic-Traumatological Hospital of Henan Province, Luoyang 471002, Henan China.

Abstract Objective: To observe the protective effect of Duhuo Jisheng decoction on chondrocytes of surgically induced knee osteoarthritis (KOA) model rats and to explore its relationship with ferroptosis of chondrocytes. **Methods:** 40 female SD rats with SPF grade were randomly divided into blank group, model group, experimental group and control group, with 10 rats in each group. Except for the blank group, the modified Hulth method was used to prepare the KOA model; the blank group opened the joint cavity without any treatment in the same way, and sutured the joint cavity after surgery. The experimental group received gavage of the traditional Chinese medicine Duhuo Jisheng decoction at a rate of 9.3 g/

(kg·d), commencing from 4 weeks after the operation. The blank group and model group were both administered saline gavage at an equal amount, whereas the control group was given 2 mg/(kg·d) injection of the Ferrostatin-1 iron death

¹ 河南中医药大学(郑州, 450046)

² 河南省洛阳正骨医院

inhibitor into the joint cavity for a duration of 12 weeks. Hematoxylin and eosin (HE) staining was utilized to observe the morphology of knee joint cartilage tissues of rats in each group. Mankin scoring system was utilized for quantitative assessment. Additionally, levels of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), and glutathione peroxidase (GSH) in the serum of rats in each group were determined using colorimetric assay. The levels of upstream signaling inhibitor (P53), solvent inhibitor, and oncogene (P53) in the cartilage tissues of the knee joints were analyzed by Western Blot in each group of rats. The protein expression of P53, solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11), glutathione peroxidase 4 (GPX4) and matrix metalloproteinase 13 (MMP-13) in the same cartilage tissues was also detected using Western Blot. **Results:** Compared with the blank group, rats in the model group presented conspicuous pathological injury to their knee cartilage, and had a higher Mankin score, an elevated serum MDA level ($P < 0.05$), reduced SOD and GSH levels ($P < 0.05$), raised P53 and MMP-13 proteins in their cartilage tissue ($P < 0.05$), and decreased SLC7A11 and GPX4 proteins ($P < 0.05$). Compared with the model group, the pathological damage of knee cartilage in experimental group and control group was improved, the Mankin score was decreased; the contents of MDA in serum were decreased ($P < 0.05$); the contents of SOD and GSH were increased ($P < 0.05$); the proteins of P53 and MMP-13 in cartilage were decreased ($P < 0.05$), and the proteins of SLC7A11 and GPX4 were increased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Duhuo Jisheng decoction can protect the cartilage of KOA model rats by regulating the ferroptosis of chondrocytes. The mechanism may be to inhibit the ferroptosis of chondrocytes by regulating the P53/SLC7A11/GPX4 signaling pathway, thus delaying the cartilage degeneration of KOA.

Keywords: Duhuo Jisheng decoction; osteoarthritis; oxidative stress; iron death

膝骨关节炎 (Knee Osteoarthritis, KOA) 是一种严重影响患者生活质量的骨关节退行性疾病^[1], 中医多归属“膝痹”“痹证”。研究发现细胞铁死亡在膝骨关节炎软骨退变中发挥重要作用^[2-3], 肿瘤抑制因子 P53 能抑制溶质载体家庭 7 成员 11 (SLC7A11), 降低谷胱甘肽过氧化物酶 4 (GPX4) 活性, 致使软骨细胞脂质过氧化发生铁死亡^[4]。临床及动物实验发现, 独活寄生汤防治膝骨关节炎疗效显著^[5-7], 但其发挥作用机制尚不清楚。本研究通过实验探讨了独活寄生汤对膝骨关节炎大鼠关节软骨的影响, 及与软骨细胞氧化应激和细胞铁死亡之间的关系, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物

40 只体重为 (200 ± 20) g 的 SPF 级 SD 雌性大鼠, 购于河南省实验动物中心, 实验动物许可证号为 SCXK(豫)2019-0002, 饲养于河南中医药大学 SPF 级实验动物中心, 本实验已经过河南中医药大学动物实验伦理委员会审核。

1.2 药物及试剂

独活寄生汤由独活 9 g, 桑寄生、细辛、秦艽、茯苓、肉桂心、防风、川芎、杜仲、牛膝、人参、甘草、当归、芍药、干地黄各 6 g 组成, 饮片购于河南省洛阳正骨医院。根据大鼠体表面积换算人体等效剂量方法换算后, 药物经煎药机煎煮后浓缩生药浓度为 1.86 g/mL。铁死亡抑制剂 Ferrostatin-1 (武汉三鹰, 批号为 BM000482)、苏木精-伊红 (HE) 染色试剂盒 (批号为 C16H1406)、上游信号抑癌基因 (P53) 抗体 (沈阳万类, 批号为 WL01919)、溶质载体家庭 7 成员 11

(Solute Carrier Family 7 Member 11, SLC7A11) 抗体 (武汉爱博泰克, 批号为 A2413)、丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 比色法试剂盒 (武汉伊莱瑞特, 批号为 E-BC-K025-M)、谷胱甘肽过氧化物酶 4 (Phospholipid Hydroperoxide Glutathione Peroxidase, GPX4) 抗体 (沈阳万类, 批号为 WL05406)、超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD) 比色法试剂盒 (武汉伊莱瑞特, 批号为 E-BC-K020-M)、基质金属蛋白酶 13 (Matrix Metalloproteinases 13, MMP-13, 武汉三鹰, 批号为 18165-1-AP)、谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathione Peroxidase, GSH) 比色法试剂盒 (武汉伊莱瑞特, 批号为 E-BC-K030-M)。

1.3 主要仪器

石蜡切片机 (Thermo, HM340E)、封片仪 (Thermo, ClearVue)、自动载玻片染色机 (Leica, XL ST5010)、光学显微镜 (Olympus, BX51)、Western Blot 电泳仪 (Servicebio, SVE-2)、Western Blot 酶标仪 (Rayto, RT-6100)。

1.4 动物分组及造模

40 只 SPF 级 SD 雌性大鼠随机分为空白组、模型组、实验组及对照组, 每组各 10 只, 除空白组外均采用改良的 Hulth 法制备大鼠膝骨关节炎模型。腹腔注射麻醉大鼠, 备皮消毒后无菌条件下沿大鼠膝关节内侧纵行切开皮肤及肌肉组织显露膝关节, 横断前交叉韧带和内侧副韧带, 切除内侧半月板^[8], 缝合关节腔, 术中避免损伤关节面, 术后不固定患肢让大鼠自由活动。空白组以同样的方法打开关节腔而不做任何处理, 其他操作均一致。各组大鼠术后连续 3 d 肌肉注

射青霉素(20 万单位)预防感染。

1.5 给药和取材

术后 2 周给予实验组大鼠独活寄生汤 9.3 g/(kg·d)灌胃,空白组和模型组给予等量的生理盐水灌胃,对照组给予铁死亡抑制剂(Ferrostatin-1)2 mg/(kg·d)关节腔注射,连续用药 12 周。末次干预后第 2 天腹腔注射巴比妥钠麻醉大鼠,心脏取血后完整取出患侧膝关节软骨组织。

1.6 HE 染色观察关节软骨组织

取甲醛固定大鼠膝关节软骨组织,常规脱钙脱水包埋,正中矢状面连续 6 μm 切片,脱蜡、水化后行 HE 染色封片,光学显微镜下观察软骨组织形态学变化,根据 Mankin 评分标准对 HE 染色的软骨组织形态进行评分^[9],分值越高表明膝骨关节炎大鼠软骨病变越严重。

1.7 比色法检测血清 MDA、SOD 和 GSH 含量

腹腔注射巴比妥钠麻醉大鼠后心脏采血 3 mL,静置后离心分离血清,比色法检测大鼠血清氧化应激指标(MDA、SOD、GSH)水平,按照试剂盒说明书操作。

1.8 Western Blot 法检测膝关节软骨组织 P53、SLC7A11、GPX4、MMP-13 蛋白表达

冷冻大鼠关节软骨组织在液氮中切碎后,加入 RIPA 裂解液提取组织蛋白;常规电泳分离蛋白并转

膜,5%脱脂牛奶封闭 1 h,用 TBST 洗膜后将膜在 4 ℃ 下与相应一抗孵育过夜:P53(1:1 000)、SLC7A11(1:1 000)、GPX4(1:1 000)、MMP-13(1:1 000)和 β-actin(1:2 000)。回收一抗,TBST 快摇洗膜,在辣根过氧化物酶缀合的山羊抗兔 IgG 二抗(1:5 000)中孵育 2 h;用增强化学发光试剂对膜进行可视化。用 ImageLab 软件分析条带灰度值,以 β-actin(细胞质)为内参蛋白,分析膜上目的蛋白的相对表达量。

1.9 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件对数据进行统计分析,用 GraphPad Prism 9 软件作图,实验计量资料数据用 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,符合正态分布计量资料多组间比较进行单因素方差齐性分析,组间比较采用 LSD 法检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 关节软骨组织病理改变

镜下观察空白组大鼠关节软骨示关节面光滑平整,软骨细胞排列规律均匀,表层、移行层、放射层、钙化层结构完整清晰可见,潮线完整。镜下观察模型组大鼠关节软骨示关节面粗糙不整或剥落,软骨结构遭到破坏,软骨层次不清,软骨细胞排列紊乱。实验组和对照组经过干预后关节软骨形态镜下观察得到改善,见图 1。

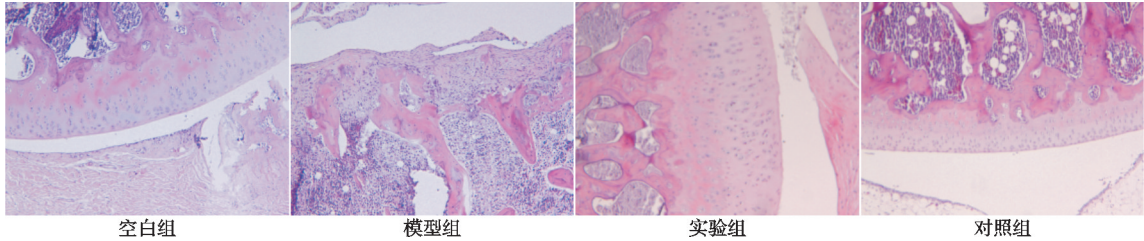


图 1 关节软骨组织染色观察(HE,×100)

2.2 Mankin 评分结果

模型组 Mankin 评分最高,与空白组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。实验组和对照组 Mankin 评分与模型组相比明显下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。以上结果表明,外科手术诱导的膝骨关节炎大鼠关节软骨组织确有病理学改变,独活寄生汤能明显减轻外科手术诱导的膝骨关节炎大鼠软骨组织退变程度,评分结果见表 1。

表 1 大鼠关节软骨 Mankin 评分比较($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	Mankin 评分/分
假手术组	0.300±0.483
模型组	7.100±0.994 ¹⁾
实验组	3.600±1.074 ²⁾
对照组	3.900±0.994 ²⁾
F	91.752
P	<0.001

注:1)与假手术组比较, $P < 0.05$;2)与模型组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 各组大鼠血清 MDA、SOD 和 GSH 活性比较

与空白组相比,模型组 MDA 活性明显升高($P < 0.05$),SOD 和 GSH 活性明显降低($P < 0.05$);与模型组相比,实验组和对照组 MDA 活性明显降低($P < 0.05$),SOD 和 GSH 活性明显升高($P < 0.05$),见表 2。

2.4 各组大鼠关节软骨组织中相关蛋白的比较

Western Blot 法检测各组大鼠软骨组织中 P53、SLC7A11、GPX4 和 MMP-13 蛋白表达水平,结果显示:与空白组相比,模型组的大鼠软骨组织中 P53 蛋白和 MMP-13 蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$),SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$);与模型组相比,实验组和对照组的大鼠软骨组织中 P53 蛋白和 MMP-13 蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$),SLC7A11 和 GPX4 表达水平升高($P < 0.05$),见图 2。

表 2 各组大鼠血清 MDA、SOD 和 GSH 活性比较($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	MDA/(nmol · L ⁻¹)	SOD/(U · mL ⁻¹)	GSH/(U · mL ⁻¹)
空白组	6.91 ± 0.54	270.13 ± 3.26	65.67 ± 2.74
模型组	10.16 ± 0.67 ¹⁾	226.66 ± 3.18 ¹⁾	46.62 ± 2.84 ¹⁾
实验组	8.55 ± 0.48 ²⁾	254.31 ± 5.33 ²⁾	55.31 ± 1.52 ²⁾
对照组	8.25 ± 0.43 ²⁾	248.48 ± 3.04 ²⁾	53.43 ± 2.45 ²⁾
F	24.841	88.586	41.656
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:1)与空白组比较, $P<0.05$;2)与模型组比较, $P<0.05$ 。

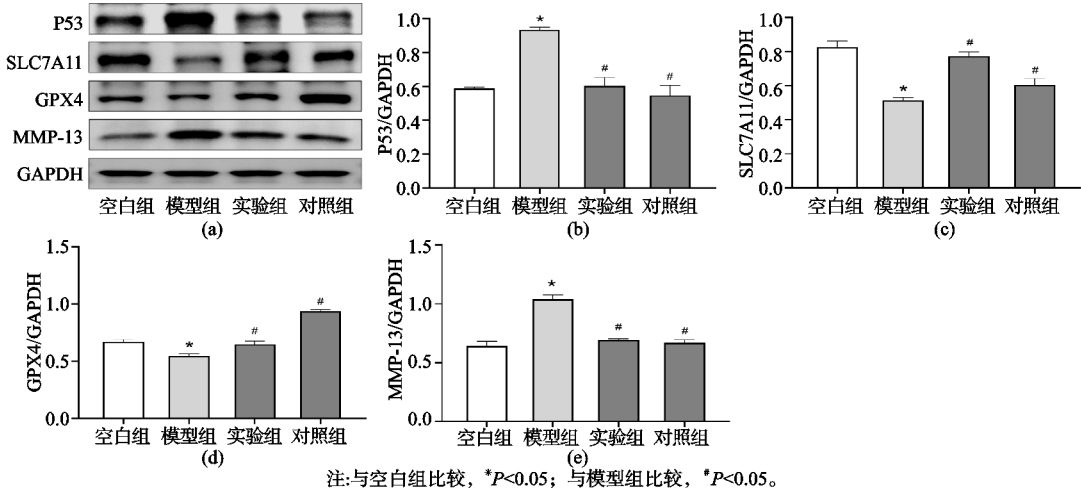


图 2 铁死亡标志物蛋白 P53、SLC7A11、GPX4 及 MMP-13 蛋白的比较

3 讨论

关节软骨由软骨细胞和其分泌的细胞外基质构成,软骨细胞是主要构成部分,负责分泌、合成及维持细胞外基质的稳态;细胞外基质分布在细胞之间,为软骨细胞提供营养生存环境并通过复杂的网络结构维持软骨骨态稳定,软骨细胞和细胞外基质相辅相成,共同维持关节软骨的结构和功能稳定^[10]。关节软骨细胞的凋亡和细胞外基质的降解是膝骨关节炎发展的病理基础。细胞铁死亡是一种新的细胞程序性死亡方式,表现为铁代谢沉积、脂质过氧化物增加和抗氧化防御能力丧失。Yao 等^[11]研究结果提示,膝骨关节炎中软骨细胞凋亡与软骨铁死亡通路活化相关。中医理论认为膝骨关节炎多归属“痹证”“骨痹”等范畴,病位在骨与关节。中医经典方独活寄生汤源自唐代孙思邈的《备急千金要方》,是中医治疗痹症的临床经典方,具有祛湿止痹、补益肝肾之功效,主要用于治疗早期关节疼痛,肢节屈伸不利。在基于氧化应激反应独活寄生汤治疗膝骨关节炎的探究中发现,独活寄生汤能够提升膝骨关节炎患者体内酶类抗氧化剂活性,抑制氧化应激^[5]。因此本研究通过建立膝骨关节炎大鼠模型,以独活寄生汤及铁死亡抑制剂(Ferrostatin-1)为干预措施,探究独活寄生汤对膝骨关节炎模型大鼠关节软骨的影响及可能作用机制,为独活寄生汤的临床合理应用提供理论支持。

本实验以独活寄生汤和铁死亡抑制剂为干预措

施,将大鼠随机分为空白组、模型组、实验组和对照组,采用 Hulth 改良法制备膝骨关节炎大鼠模型^[8]。干预完成后 HE 染色关节软骨组织,结果显示空白组大鼠关节软骨镜下观察示关节面光滑平整,软骨细胞排列规律均匀,四层结构完整清晰可见,潮线完整。模型组大鼠关节软骨镜下观察示关节面粗糙不整或剥落,软骨结构遭到破坏,软骨层次不清,软骨细胞排列紊乱。实验组和对照组经过干预后关节软骨形态镜下观察得到改善。Mankin 评分结果显示模型组大鼠关节软骨 Mankin 评分最高,实验组和对照组大鼠关节软骨 Mankin 评分与模型组相比明显下降,差异均有统计学意义,通过病理形态学和 Mankin 评分证实了独活寄生汤对膝骨关节炎大鼠关节软骨的保护作用。

基质金属蛋白酶(MMPs)是一种胶原蛋白水解酶,其主要的生物学功能是降解细胞外基质(ECM)蛋白。基质金属蛋白酶家族成员中的 MMP-13 贯穿整个膝骨关节炎进程,诱导软骨细胞凋亡的同时还能协同 MMP-1 发挥降解作用,在软骨降解中起重要作用,是膝骨关节炎发病期间退行性进程的主要贡献者^[10]。正常情况下,基质金属蛋白酶和基质金属蛋白酶抑制剂二者共同作用下保持分解和产生过程的动态平衡,以维持细胞外基质的生理结构和生物学功能。在膝骨关节炎过程中,应激、老化、炎症递质等病理刺激以正反馈方式诱导软骨细胞分泌 MMP-13,打破代谢平衡而加重膝骨关节炎^[10-12]。实验中

采用 Western Blot 法检测了大鼠软骨组织中 MMP-13 蛋白表达水平,结果显示与空白组比,模型组中 MMP-13 蛋白表达水平显著增高;与模型组比,实验组中 MMP-13 蛋白表达水平下降。通过检测软骨组织中 MMP-13 蛋白表达,进一步从分子层面证实独活寄生汤对软骨的保护作用。另外,铁死亡抑制剂干预的对照组中 MMP-13 蛋白表达水平较模型组水平显著降低,提示独活寄生汤抑制膝骨关节炎大鼠关节软骨组织细胞外基质降解发挥的软骨保护作用与抑制软骨细胞铁死亡有关。

活性氧(ROS)是线粒体能量代谢过程中形成的氧自由基及其衍生的氧化产物的统称,在细胞铁死亡中,过量的铁离子通过芬顿反应产生大量的羟基自由基,当活性氧产生的量超过细胞自身抗氧化能力时,细胞发生脂质过氧化损伤即细胞铁死亡^[13]。研究结果表明^[11]在炎症环境下关节软骨细胞处于氧化应激状态,软骨细胞会产生大量活性氧而成为促发细胞铁死亡的关键因素。丙二醛是一种脂质过氧化的最终产物,会加剧细胞损伤且具有相对稳定的浓度,测定丙二醛浓度可测定一段时期内氧化应激水平变化以反映细胞损伤程度^[14]。细胞中的超氧化物歧化酶通过歧化反应可以清除过量的氧自由基,以达到对细胞氧化损伤的保护作用^[15],是一种重要的抗氧化金属酶。谷胱甘肽过氧化物酶是细胞中主要的抗氧化剂,并且能协助 GPX4 抑制脂质过氧化物的生成以保护细胞避免受到氧化应激损伤^[16]。本实验检测的血清中丙二醛、超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶含量水平显示,独活寄生汤能够增强膝骨关节炎大鼠血清中超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶含量水平,降低丙二醛水平,表明独活寄生汤能够通过改善膝骨关节炎大鼠氧化损伤保护软骨细胞。

在正常情况下,细胞的抗氧化防御系统可以控制铁离子介导的脂质氧化反应,当抗氧化防御系统中的某一环节出现问题,抗氧化能力下降导致细胞氧化损伤。SLC7A11 对胱氨酸和谷氨酸具有高度特异性,能控制胱氨酸的胞外摄取和谷氨酸释放,促进谷胱甘肽过氧化物酶的合成,保护细胞免受氧化应激的损伤,维持细胞氧化还原平衡^[17-19]。P53 作为一种抑癌基因,具有下调 SLC7A11 的表达来抑制细胞谷胱甘肽过氧化物酶合成的作用^[20]。整个抗氧化系统中 GPX4 是关键抗氧化酶^[21],以谷胱甘肽过氧化物酶作为底物,将膜磷脂氢过氧化物还原为无害的脂醇,直接作用于消除脂质双层中的氢过氧化物并防止致命脂质活性氧的积累。为进一步证实独活寄生汤的软骨保护作用与抑制软骨细胞铁死亡的关系,实验检测了大鼠关节软骨组织中的 P53、SLC7A11 和 GPX4 蛋白表达水

平,结果显示独活寄生汤能够提升膝骨关节炎大鼠 SLC7A11 和 GPX4 蛋白的表达水平,降低 P53 蛋白的表达水平。

综上所述,独活寄生汤可以通过调控软骨细胞氧化应激和细胞铁死亡对膝骨关节炎模型大鼠软骨产生保护作用,其机制可能是通过调控 P53/SLC7A11/GPX4 通路抑制软骨细胞凋亡,从而延缓膝骨关节炎模型大鼠的软骨退变。

参考文献

- [1] GOFF A J, ELKINS M R. Knee osteoarthritis[J]. J Physiother, 2021, 67(4): 240-241.
- [2] 刘渊, 邓健, 孙雪莲, 等. 足阳明经筋手法治疗对膝关节骨性关节炎患者股四头肌力学性能及软骨细胞铁死亡的影响[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(9): 5504-5507.
- [3] 王柯, 叶寒露. 大黄素对膝骨关节炎大鼠软骨细胞铁死亡的影响及机制研究[J]. 天津医药, 2023, 51(10): 1090-1097.
- [4] 王瑶, 陈士坤, 段晨阳, 等. Sirt6 通过调控 P53/SLC7A11/GPX4 通路抑制骨骼肌细胞铁死亡[J]. 中国病理生理杂志, 2023, 39(2): 335-344.
- [5] 张斌山. 独活寄生汤对风寒湿痹型关节炎患者关节液中炎症因子、氧化应激及脂肪细胞因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(6): 186-191.
- [6] 马俊, 左传, 马勇胜, 等. 氧化应激反应与膝关节骨性关节炎的相关性探究[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(3): 500-503.
- [7] 赵忠胜, 黄云梅, 郑若曦, 等. 独活寄生汤对改良 Hulth 法造模大鼠膝骨关节炎软骨形态的影响[J]. 福建中医药, 2019, 50(5): 59-62.
- [8] LAMPROPOULOU-ADAMIDOU K, LELOVAS P, KARADIMAS E V, et al. Useful animal models for the research of osteoarthritis[J]. Eur J Orthop Surg Traumatol, 2014, 24(3): 263-271.
- [9] 秦娜, 魏立伟, 张虹. 桃仁膝康丸通过 PI3K/AKT/mTOR 信号通路激活软骨细胞自噬抗膝骨性关节炎的机制研究[J]. 中药药理与临床, 2021, 37(4): 165-169.
- [10] 廖建钊, 夏天. 细胞外基质在骨关节炎发生、发展中的作用及临床研究价值[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(12): 1937-1943.
- [11] YAO X, SUN K, YU S, et al. Chondrocyte ferroptosis contribute to the progression of osteoarthritis[J]. Journal of Orthopaedic Translation, 2021, 27: 33-43.
- [12] ABRAMSON S B, ATTUR M. Developments in the scientific understanding of osteoarthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2009, 11(3): 227.
- [13] DIXON S J S J, LEMBERG K M K M, LAMPRECHT M R M R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of non-apoptotic cell death[J]. Cell, 2012, 149(5): 1060-1072.

- [8] DEEKEN C R, ELIASON B J, PICHERT M D, et al. Differentiation of biologic scaffold materials through physico-mechanical, thermal, and enzymatic degradation techniques[J]. *Ann Surg*, 2012, 255(3):595-604.
- [9] AKLE C, WELSH K, ADINOLFI M, et al. Immunogenicity of human amniotic epithelial cells after transplantation into volunteers[J]. *The Lancet*, 1981, 318(8254):1003-1005.
- [10] ADINOLFI M, AKLE C, MCCOLL I, et al. Expression of HLA antigens, β 2-microglobulin and enzymes by human amniotic epithelial cells[J]. *Nature*, 1982, 295(5847):325-327.
- [11] 王丹, 尹晶, 王玉英, 等. 人源脱细胞羊膜与脱细胞羊膜下层组织修复皮肤缺损[J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(34):5570-5576.
- [12] 裴森. 羊膜移植治疗难治的角膜溃疡的临床观察[J]. *中华眼外伤职业眼病杂志*, 2021, 43(11):871-874.
- [13] 姜良斌, 韦标方, 冯志, 等. 人脱细胞羊膜与骨髓间充质干细胞复合体修复关节软骨缺损[J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(26):4113-4118.
- [14] 崔永, 龚民. 羊膜——易于获得的器官修复与重建的生物材料[J]. *中华胸心血管外科杂志*, 2008, 24(6):423-424.
- [15] SANLUIS-VERDES A, YEBRA-PIMENTEL VILAR M T, GARCIA-BARREIRO J J, et al. Production of an acellular matrix from amniotic membrane for the synthesis of a human skin equivalent[J]. *Cell Tissue Bank*, 2015, 16(3):411-423.
- [16] WU M, XIONG J, SHAO S, et al. Hair follicle morphogenesis in the treatment of mouse full-thickness skin defects using composite human acellular amniotic membrane and adipose derived mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cells International*, 2016:8281235.

(收稿日期:2023-10-02)

(上接第 13 页)

- [14] 李哲, 袁长深, 官岩兵, 等. 骨关节炎中铁死亡的生物信息学分析与实验验证[J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(17):2637-2643.
- [15] 何信用, 王俊岩, 宋囡, 等. 二陈汤合桃红四物汤调控 P53/SLC7A11 介导的氧化损伤及铁死亡抗动脉粥样硬化的作用及机制研究[J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(5):2344-2348.
- [16] 王威, 郑小宇. 铁死亡在骨关节炎中的作用[J]. *生命的化学*, 2022, 42(4):759-765.
- [17] LIN W, WANG C, LIU G, et al. SLC7A11/xCT in cancer: biological functions and therapeutic implications[J]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(10):3106-3126.
- [18] BASSI M T, GASOL E, MANZONI M, et al. Identification and characterisation of human xCT that co-expresses, with 4F2 heavy chain, the amino acid transport activity system[J]. *Pflugers Arch*, 2001, 442(2):286-296.
- [19] 蔡晓钧, 杨仁义, 王智槟, 等. 基于 P53/SLC7A11/GPX4 通路研究疏肝祛瘀解毒方诱导肝癌细胞铁死亡的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(8):74-82.
- [20] GUAN Z, CHEN J, LI X, et al. Tanshinone II A induces ferroptosis in gastric cancer cells through p53-mediated SLC7A11 down-regulation[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(8):BSR20201807.
- [21] 熊治林, 孙红, 刘森, 等. 铁死亡在椎间盘退变和骨关节炎中的作用[J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(36):5884-5890.

(收稿日期:2023-10-12)