

藏红花素抑制 NLRP3 炎性小体对急进高原重度失血性休克大鼠肾脏损伤的保护作用

杨永涛 殷裕雄 张浩强 耿智隆

摘要 目的 研究藏红花素对急进高原重度失血性休克大鼠肾损伤的保护作用及保护机制。方法 复制急进高原重度失血性休克大鼠模型并给予藏红花素。观察各组大鼠生存时间,记录不同时刻平均动脉压(mean arterial pressure, MAP)及 SpO₂, 药物复苏 3h 后或大鼠死亡即刻(生存时间不足 3h)处死大鼠留取血液。测定血清中肾功能指标和肾组织的炎性细胞因子。Western blot 法检测 NLRP3 及 caspase - 1 的蛋白表达情况。**结果** 藏红花素可提高失血性休克大鼠生存率及生存时间,并改善 MAP 及血氧饱和度(peripheral capillary oxygen saturation, SpO₂)。经藏红花素干预后肾功能指标及炎性细胞因子呈剂量依赖性降低,同时可呈剂量依赖性抑制肾组织中 NLRP3 及 caspase - 1 蛋白表达。**结论** 藏红花素抑制 NLRP3 炎性小体可能是急进高原失血性休克大鼠肾损伤的保护机制。

关键词 藏红花素 急进高原 重度失血性休克 NLRP3 caspase - 1 肾脏

中图分类号 R969.1

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2023.05.008

Protective Effect of Crocin Inhibition of NLRP3 Inflammatory Vesicles on Renal Injury in Rats in Acute Exposure to High Altitude and Severe Hemorrhagic Shock. YANG Yongtao, YIN Yuxiong, ZHANG Haoqiang, et al. Department of Anesthesiology, Second Hospital of Lanzhou University, Gansu 730000, China

Abstract Objective To study the protective effect and mechanism of crocin on renal injury in rats with severe hemorrhagic shock at acute exposure to high altitude. **Methods** The rat model of severe hemorrhagic shock at acute exposure to high altitude was replicated and crocin was given. The survival time of rats in each group was observed, and MAP and SpO₂ were recorded at different times. Blood was collected from the rats after 3 - hour of drug resuscitation or immediately after death (survival time less than 3h). The indexes of renal function in serum and inflammatory factors in renal tissue were detected. Western blot was performed to detect the protein expression of NLRP3 and caspase - 1. **Results** Crocin increased the survival rate and survival time of rats with hemorrhagic shock, and improved MAP and SpO₂. After intervention with crocin, the indexes of renal function and inflammatory factors decreased in a dose - dependent manner, and the expression of NLRP3 and caspase - 1 protein in renal tissue was inhibited in a dose - dependent manner. **Conclusion** The inhibitory effect of crocin on NLRP3 inflammatory bodies may be the protective mechanism of renal injury in rats with hemorrhagic shock at acute exposure to high altitude.

Key words Crocin; Acute exposure to high altitude; Severe hemorrhagic shock; NLRP3; Caspase - 1; Kidney

肾脏是失血性休克及复苏期间最易受损伤的器官之一,休克后肾脏微循环灌注不足引起细胞代谢功能障碍,产生氧化应激及炎性反应导致肾损伤,因此肾脏需及时恢复正常组织灌注才可减轻损伤,然而休

克早期液体复苏在高原患者的承受能力较低,即使输入远较平原地区正常用量少的液体也易诱发肺水肿和脑水肿^[1]。当液体复苏后肾灌注急剧增加,肾脏缺血再灌注加重炎性反应和氧化应激,进一步加重肾组织结构功能的损伤。然而肾损伤机制尚不明确仍无有效治疗策略,而肾损伤相关机制与 NLRP3(nod - like receptor protein - 3)炎性小体的关系受到临床研究的重视。研究表明, NLRP3 炎性小体及 NLRP3 炎性小体活化标记因子半胱天冬酶 - 1(cysteiny l aspartate specific proteinase, caspase - 1)作为抑制炎性反应的核心调节受体,对肾损伤具有重要的保护作用^[2]。研究表明,通过抑制 NLRP3 - caspase - 1 可改善氧化应激和炎性反应,进而缓解缺血再灌注导致的

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81371983);中国人民解放军后勤科研计划面上项目(C LZ14L001);甘肃省自然科学基金资助项目(1506RJZA305);甘肃省科技计划项目(20JR5RA588);中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院研究生导师专项项目(2022yxky018)

作者单位:730000 兰州大学第二医院麻醉科(杨永涛);730000 兰州,中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院麻醉科(杨永涛、殷裕雄),全军骨科中心(张浩强);710000 西安医学院附属第二医院麻醉科(耿智隆)

通信作者:耿智隆,电子信箱:ery_gengzl@lzu.edu.cn

肾小管细胞死亡及肾小管结构和功能损伤,明显改善肾功能^[3]。研究表明,藏红花素具有抗炎和抗氧化应激作用,藏红花素可抑制失血性休克后肾脏的氧化应激和炎症反应^[4-6]。然而这种保护作用是否通过抑制 NLRP3 炎性小体尚未明确。

本研究拟建立急进高原状态下重度失血性休克模型,阐明藏红花素治疗休克后肾损伤可能的调节机制,并进一步明确 NLRP3 炎性小体及 NLRP3 炎性小体活化标记因子 caspase - 1 在这种调节作用中的保护机制,为临床合理用药提供参考。

材料与方法

1. 实验动物及主要试剂:SPF 级 SD 雄性大鼠 30 只,鼠龄 12~15 周,体质量为 200~250g,购自重庆滕鑫生物技术有限公司,动物试验许可证号:SCXK(辽)020—001。24h 内将大鼠由甘肃省兰州市(海拔 1503 米)运往青海玉树(海拔 4010 米)。12h 昼夜循环,室温 25℃ 左右,提供食物和水。本实验通过中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院动物伦理委员会审批(伦理学审批号:2021KYLL121)。藏红花素购自上海源叶生物科技有限公司(纯度 ≥98%,批号:YY90210)。SCR、BUN、NLRP3、caspase - 1、IL - 18 及 IL - 1β 的酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒购自上海江莱实业有限公司。BCA 蛋白定量试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司,anti - NLRP3、anti - caspase - 1 均购自北京索莱宝科技有限公司。

2. 动物分组、模型建立及药物治疗:大鼠禁食 8h,自由饮水,采用随机数字表法分为 5 组($n = 6$),即 C 组、NACL 组、LC 组、MC 组和 HC 组。腹腔注射 10% 水合氯醛(3ml/100g)麻醉,采用 Wigger's 改良法制备急进高原重度失血性休克大鼠模型,大鼠右侧颈部备皮、消毒、分离皮下组织后暴露出颈动脉和颈静脉,用 24G 留置针对颈动脉及颈静脉置管,导管用肝素 0.9% 氯化钠溶液预先肝素化,动脉导管连接多通道生理检测仪的压力传感器监测平均动脉压(mean arterial pressure, MAP),将血氧探头置于鼠尾监测血氧饱和度(peripheral capillary oxygen saturation, SpO₂)^[7]。按照 0.5U/g 全身肝素化处理,大鼠生命体征维持 10min 后。经颈动脉匀速放血 30min,使 MAP 降低至 35mmHg,放出血液给予 7.5U/ml 肝素抗凝处理后保存。给大鼠放血或血液回输将 MAP 维持在 30~40mmHg,维持时间为 60min。操作全程将大鼠置于恒温 37℃ 工作台上。大量研究表明,使用 10~80mg/kg 藏红花素对失血性休克或缺血诱导的多

器官损伤具有保护作用^[5,8,9]。根据文献报道,选择 40、60、80mg/kg 藏红花素作为本研究中的使用剂量。模型制备成功即刻进行药物复苏,LC 组、MC 组、HC 组分别腹腔注射 40、60、80mg/kg 藏红花素,NACL 组给予相同容量的 0.9% 氯化钠溶液,C 组仅置管不放血。

3. 指标检测:记录大鼠休克前、休克后(复苏时)、复苏 0.5h、复苏 1h、复苏 2h、复苏 3h 及大鼠未存活 3h 死亡前 MAP 及 SPO₂,药物复苏 3h 后或大鼠死亡即刻(生存时间不足 3h)处死大鼠取心脏血液 1ml 离心后取血清 -20℃ 保存及肾脏组织 -80℃ 冷冻保存,取血清采用 ELISA 法测定 SCR、BUN。取部分肾组织采用 ELISA 法测定 NLRP3、caspase - 1、IL - 18、IL - 1β,上述均严格按照试剂盒说明进行操作。

4. Western blot 法检测:取冻存肾组织 50mg,加组织细胞裂解液 200μl 匀浆,提取蛋白,BCA 法蛋白定量,10% SDS - PAGE 分离各组蛋白并转移至 PVDF 膜,封闭液室温封闭 2h。滴加一抗,4℃ 过夜孵育。洗膜后 37℃ 孵育 HRP 标记山羊抗兔 IgG 二抗 1h。洗膜后化学发光、显影,凝胶成像分析系统行灰度扫描分析,结果以目的蛋白条带灰度值与内参蛋白 GAPDH 灰度比值表示。

5. 统计学方法:应用 Graphpad 9.0 统计学软件对数据进行统计分析,多组间数据比较采用 Two - way ANOVA。两组率的比较应用 SPSS 25.0 进行 χ^2 检验,数据结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 大鼠生存情况:C 组大鼠 3h 无死亡,NACL 组和 LC 组大鼠 3h 生存率为 0,MC 组大鼠 3h 生存率为 16.67%,HC 组大鼠 3h 生存率为 33.33%。与 NACL 组比较,MC 组、HC 组、C 组的生存时间及生存率明显高于 NACL 组($P < 0.05$);与 C 组比较,NACL 组、LC 组、MC 组、HC 组的生存时间及生存率明显低于 C 组($P < 0.05$),经藏红花素干预后呈剂量依赖性延长大鼠存活时间,详见表 1 及图 1。

表 1 大鼠生存时间比较($n = 6, \bar{x} \pm s$)

组别	生存时间(min)	3h 存活率(%)
NACL 组	69.67 ± 9.05	0
LC 组	87.00 ± 14.90 [#]	0 [#]
MC 组	120.50 ± 30.47 ^{**}	16.67 ^{**}
HC 组	146.17 ± 29.46 ^{**}	33.33 ^{**}
C 组	180.00 ± 0.00 [*]	100.00 [*]

与 NACL 组比较, * $P < 0.05$; 与 C 组比较, [#] $P < 0.05$

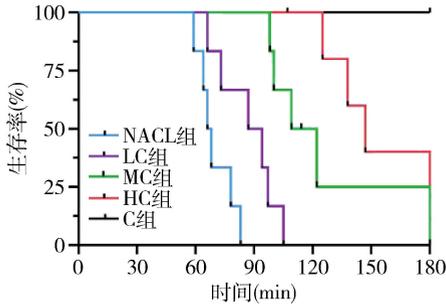


图1 大鼠3h生存曲线图

表2 大鼠不同时间点 MAP 变化 (mmHg, n = 6, $\bar{x} \pm s$)

组别	休克前	休克后(复苏时)	复苏0.5h	复苏1h	死亡时
NACL组	108.00 ± 6.07	35.00 ± 3.46*	34.50 ± 3.27*	30.67 ± 4.27*	27.50 ± 2.07
LC组	106.67 ± 7.37	34.33 ± 3.20*	35.50 ± 2.88*	33.83 ± 2.14*	31.00 ± 2.53
MC组	106.17 ± 10.83	35.50 ± 1.38*	36.00 ± 1.26*	36.50 ± 2.43*	31.40 ± 2.41
HC组	107.83 ± 11.69	35.67 ± 3.27*	36.33 ± 2.07*	36.83 ± 2.48*	32.25 ± 2.36
C组	108.17 ± 5.85	110.5 ± 6.69	110.17 ± 5.00	110.17 ± 5.85	-

与C组比较, *P < 0.05

表3 大鼠不同时间点 SpO₂ 变化 (% , n = 6, $\bar{x} \pm s$)

组别	休克前	休克后(复苏时)	复苏0.5h	复苏1h	死亡时
NACL组	89.67 ± 1.63	82.17 ± 1.47	78.00 ± 1.10	76.50 ± 1.05	57.33 ± 7.20
LC组	90.00 ± 1.41	81.83 ± 1.17#	78.67 ± 1.37#	78.67 ± 1.37#	55.00 ± 7.64
MC组	89.50 ± 2.17	81.17 ± 1.72#	80.83 ± 0.98*#	81.83 ± 1.72*#	56.60 ± 7.89
HC组	90.00 ± 2.28	81.17 ± 1.33#	83.33 ± 1.03*#	84.67 ± 1.21*#	64.00 ± 4.32
C组	90.33 ± 2.73	89.17 ± 2.64	90.00 ± 1.41*	90.00 ± 2.00*	-

与NACL组比较, *P < 0.05; 与C组比较, #P < 0.05

4. 大鼠肾脏功能: ELISA 实验结果表明 NACL 组血清中 SCR、BUN 水平高于 LC 组、MC 组、HC 组、C 组 ($P < 0.05$); C 组大鼠 SCR、BUN 含量低于 HC 组 ($P > 0.05$), 且明显低于 NACL 组、LC 组及 MC 组 ($P < 0.01$); 经藏红花素干预后 SCR、BUN 水平在 LC 组、MC 组、HC 组呈剂量依赖性降低 ($P < 0.05$), 详见图 2。

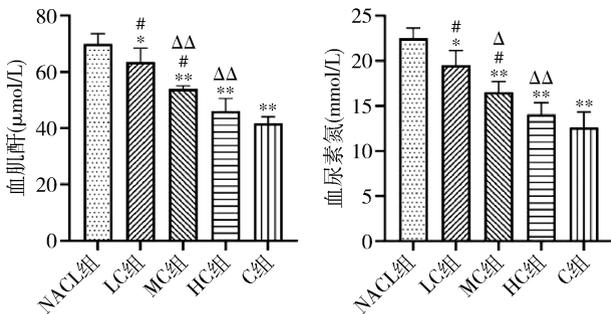


图2 大鼠肾脏功能变化

与NACL组比较, *P < 0.05, **P < 0.01; 与C组比较,

#P < 0.01; 与LC组比较, ΔP < 0.05, ΔΔP < 0.01

2. 大鼠不同时间点 MAP 变化: 与 C 组比较, NACL 组、LC 组、MC 组、HC 组休克后(复苏时)、复苏 0.5h、复苏 1h 的 MAP 均低于 C 组 ($P < 0.05$), 详见表 2。

3. 大鼠不同时间点 SpO₂ 变化: 各组大鼠在休克前 SpO₂ 并无差异; 与 NACL 组比较, MC 组、HC 组、C 组在复苏 0.5h、复苏 1h 的 SpO₂ 均升高 ($P < 0.05$); 与 C 组比较, NACL 组、LC 组、MC 组、HC 组的 SpO₂ 在休克后(复苏时)、复苏 0.5h、复苏 1h 均下降 ($P < 0.05$), 详见表 3。

5. 大鼠炎症细胞因子水平: ELISA 实验结果表明, NACL 组大鼠肾组织中 NLRP3、caspase - 1、IL - 18、IL - 1β 显著高于 LC 组、MC 组、HC 组、C 组 ($P < 0.05$); C 组大鼠 NLRP3、caspase - 1、IL - 18、IL - 1β 低于 HC 组 ($P > 0.05$), 且明显低于 NACL 组、LC 组及 MC 组 ($P < 0.01$); 经藏红花素干预后 LC 组、MC 组、HC 组肾组织中 NLRP3、caspase - 1、IL - 18、IL - 1β 的水平呈剂量依赖性降低 ($P < 0.05$), 详见图 3。

6. 大鼠肾组织 NLRP3 及 caspase - 1 蛋白表达情况: Western blot 法结果表明, NACL 组肾组织中 NLRP3 及 caspase - 1 蛋白含量高于 LC 组、MC 组、HC 组及 C 组 ($P < 0.05$); 经藏红花素干预后 LC 组、MC 组、HC 组肾组织中 NLRP3 及 caspase - 1 蛋白含量呈剂量依赖性降低, 藏红花素可抑制 NLRP3 炎性小体及 NLRP3 炎性小体活化标记因子 caspase - 1 的活化, 详见图 4 及图 5。

讨 论

失血性休克可引起一系列复杂的病理生理过程,

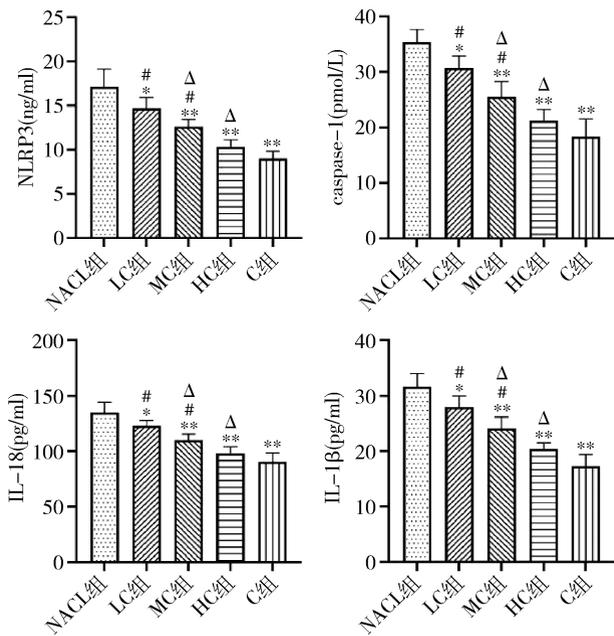


图3 大鼠炎症细胞因子变化

与NACL组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与C组比较, # $P < 0.01$; 与LC组比较, Δ $P < 0.01$

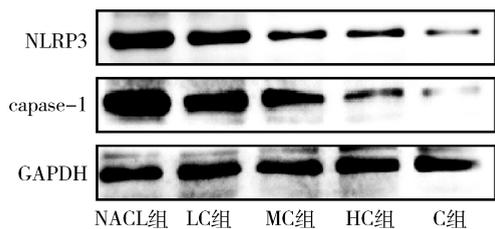


图4 大鼠肾组织NLRP3及caspase-1蛋白表达

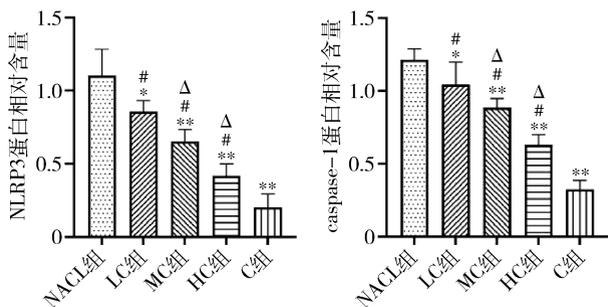


图5 大鼠肾组织NLRP3及caspase-1相对含量

与NACL组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与C组比较, # $P < 0.01$; 与LC组比较, Δ $P < 0.01$

其发病与微循环、氧化代谢、炎症、免疫及凝血等有关,引起机体生理异常,进一步导致各器官衰竭或死亡^[10]。本实验地点海拔为4120米,随着海拔升高氧分压减少约31mmHg,大气中氧含量相当于海拔1503米氧含量的75%。与平原地区比较,高原地区经历

相同的失血,其休克严重程度也不同。本实验采用等压法制备失血性休克模型,本实验组前期研究发现制备等容失血性休克模型时平原地区大鼠致死失血量约为其全身血量的60%,在急进高原状态下大鼠致死失血量约为其全身血量的55%。急性肾损伤在急进高原重度失血性休克后引起的多器官衰竭的发展过程中是常见且严重的,并且与危重患者病死率增加有关,因此减轻肾损伤的相关复苏策略可能会改善休克引起的不良后果。在高原低氧、低压、寒冷的特殊地理环境下,经历失血性休克和急进高原双重打击后会加重组织缺血缺氧和炎症反应导致细胞因子、炎症介质和氧化因子迅速产生并大量释放^[11]。

NLRP3 炎性小体在炎症性疾病的发生、发展中起重要作用。而缺血再灌注损伤、氧化应激等多种因素均可激活 NLRP3 炎性小体^[12]。NLRP3 炎性小体被激活后使得半胱天冬酶-1 (cysteinyl aspartate specific proteinase, caspase-1) 前体自身酶解成具有生物活性的 caspase-1, caspase-1 活化后使得 pro-IL-1β 和 pro-IL-18 加工成具有生物活性的 IL-1β 和 IL-18 进而发挥相应生理作用^[13]。NLRP3 作为炎性细胞因子的启动因子,可活化细胞因子前体使其自发激活,释放炎症介质和细胞因子,引起休克后多脏器损伤^[14]。研究表明,在急性肾小管坏死相关的肾缺血再灌注损伤小鼠模型中 NLRP3 和凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein, ASC) 的表达上调^[15]。而 NLRP3、ASC 和 caspase-1 缺陷的动物不受肾脏炎症的影响^[16]。在 IL-18 缺失的小鼠肾功能及肾小管损伤程度更低,当用 IL-18 拮抗剂预处理小鼠时也有类似结果^[17]。NLRP3 基因缺失的小鼠在缺血再灌注损伤后表现出抑制肾小管坏死和凋亡以及促进肾小管上皮细胞增殖^[18]。在小鼠肾脏缺血再灌注3天后 NLRP3 炎性小体激活达到峰值,而 NLRP3 基因敲除小鼠对缺血性急性肾损伤有保护作用。敲除 NLRP3 基因或加入 caspase-1 抑制剂可显著降低 ASC、caspase-3、IL-1β 及 IL-18 表达水平,同时逆转 CLP 小鼠的肾脏损伤,证明 NLRP3 与 caspase-1 参与脓毒症诱发的急性肾损伤^[19]。因此以上研究表明,NLRP3 炎性小体信号通路可能参与休克引起肾损伤的过程,所以抑制 NLRP3 炎性小体活化可以改善失血性休克后肾脏炎症反应。

本实验中藏红花素组肾功能指标、炎症细胞因子及蛋白表达呈剂量依赖性降低,可提高大鼠的生存率

及生存时间,证明 NLRP3 及 NLRP3 炎性小体活化的标记因子 caspase - 1 可能参与了急进高原失血性休克大鼠早期肾损伤的过程,表明藏红花素抑制 NLRP3 炎性小体可能是急进高原失血性休克大鼠肾脏损伤的保护机制。所以 NLRP3 炎性小体可作为急进高原失血性休克肾损伤的治疗靶点。

综上所述,藏红花素具有抗氧化应激、抗炎、抗组胺、改善焦虑和抑郁、催眠、改善脑代谢、调节血脂、抗肿瘤、免疫调节等作用^[4]。在休克后肾保护方面可明显抑制 NLRP3 炎性小体相关的信号通路活化,并改善肾功能,提高休克大鼠生存率。所以藏红花素通过 NLRP3 炎性小体相关信号通路来介导失血性休克后肾损伤的发生、发展,并起到明显的保护作用。本研究为临床上治疗急进高原地区休克后肾脏损伤提供了新的治疗靶点和临床策略。

参考文献

- Meng XM, Mak TS, Lan HY. Macrophages in renal fibrosis [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1165: 285 - 303
- Bortolotti P, Faure E, Kipnis E. Inflammasomes in tissue damages and immune disorders after trauma [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1900
- Ni J, Jiang L, Shen G, *et al.* Hydrogen sulfide reduces pyroptosis and alleviates ischemia - reperfusion - induced acute kidney injury by inhibiting NLRP3 inflammasome [J]. *Life Sci*, 2021, 284: 119466
- Ahmed S, Hasan MM, Heydari M, *et al.* Therapeutic potentials of crocin in medication of neurological disorders [J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 145: 111739
- Yang L, Dong X. Inhibition of inflammatory response by crocin attenuates hemorrhagic shock - induced organ damages in rats [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2017, 37(7): 295 - 302
- Liu Y, Yao C, Wang Y, *et al.* Protective effect of crocin on liver function and survival in rats with traumatic hemorrhagic shock [J]. *J Surg Res*, 2021, 261: 301 - 309
- Roy M, Burggraf M, Lendemans S, *et al.* Tranexamic acid prolongs survival after controlled hemorrhage in rats [J]. *J Surg Res*, 2017, 208: 104 - 110

- 温彬. 藏红花素预处理对缺血性脑损伤大鼠海马线粒体保护作用的研究 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2020, 29(31): 3451 - 3455
- Sarshoori JR, Asadi MH, Mohammadi MT. Neuroprotective effects of crocin on the histopathological alterations following brain ischemia - reperfusion injury in rat [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2014, 17(11): 895 - 902
- Kuo K, Palmer L. Pathophysiology of hemorrhagic shock [J]. *J Vet Emerg Crit Care: San Antonio*, 2022, 32(S1): 22 - 31
- Huang Q, Gao S, Yao Y, *et al.* Innate immunity and immunotherapy for hemorrhagic shock [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 918380
- Correa R, Silva L, Ribeiro D, *et al.* Lysophosphatidylcholine induces NLRP3 inflammasome - mediated foam cell formation and pyroptosis in human monocytes and endothelial cells [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2927
- Kelley N, Jeltema D, Duan Y, *et al.* The NLRP3 inflammasome: an overview of mechanisms of activation and regulation [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13): 3328
- Patel NM, Yamada N, Oliveira F, *et al.* Inhibition of macrophage migration inhibitory factor activity attenuates haemorrhagic shock - induced multiple organ dysfunction in rats [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 886421
- Han SJ, Lovaszi M, Kim M, *et al.* P2X4 receptor exacerbates ischemic AKI and induces renal proximal tubular NLRP3 inflammasome signaling [J]. *FASEB J*, 2020, 34(4): 5465 - 5482
- Aranda - Rivera AK, Srivastava A, Cruz - Gregorio A, *et al.* Involvement of inflammasome components in kidney disease [J]. *Antioxidants: Basel*, 2022, 11(2): 246
- Liang H, Xu F, Zhang T, *et al.* Inhibition of IL - 18 reduces renal fibrosis after ischemia - reperfusion [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 879 - 889
- Su X, Liu B, Wang S, *et al.* NLRP3 inflammasome: a potential therapeutic target to minimize renal ischemia/reperfusion injury during transplantation [J]. *Transpl Immunol*, 2022, 75: 101718
- 苗雪圆, 彭清, 孙柳, 等. 细胞焦亡在脓毒症中的作用及中医药干预研究进展 [J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2021, 27(1): 140 - 144

(收稿日期: 2022 - 11 - 01)

(修回日期: 2022 - 11 - 24)

(上接第 11 页)

- Li Y, Liem Y, Dall' Ara E, *et al.* Subchondral bone microarchitecture and mineral density in human osteoarthritis and osteoporosis: a regional and compartmental analysis [J]. *J Orthop Res*, 2021, 39(12): 2568 - 2580
- Zuo Q, Lu S, Du Z, *et al.* Characterization of nano - structural and nano - mechanical properties of osteoarthritic subchondral bone [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2016, 17(1): 367
- Taheri S, Yoshida T, Böker KO, *et al.* Investigating the microchannel architectures inside the subchondral bone in relation to estimated hip reaction forces on the human femoral head [J]. *Calcif Tissue Int*, 2021, 109(5): 510 - 524

- Prasad I, Crawford R, Xiao Y. Aggravation of ADAMTS and matrix metalloproteinase production and role of ERK1/2 pathway in the interaction of osteoarthritic subchondral bone osteoblasts and articular cartilage chondrocytes—possible pathogenic role in osteoarthritis [J]. *J Rheumatol*, 2012, 39(3): 621 - 634
- Yan D, Liu TX, Liu BY, *et al.* Effects of structural changes in subchondral bone on articular cartilage in a beagle dog model [J]. *Biomed Environ Sci*, 2017, 30(3): 194 - 203

(收稿日期: 2020 - 04 - 28)

(修回日期: 2020 - 05 - 16)