

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.15.009
文章编号: 1005-8982 (2022) 15-0047-06

实验研究·论著

3种小分子拮抗剂对骨关节炎软骨细胞的作用*

王坤, 王旭, 施政良, 宁梓文, 何任杰, 董开颜, 李彦林
(昆明医科大学第一附属医院 运动医学科, 云南 昆明 650031)

摘要: **目的** 探讨3种小分子拮抗剂(TN14003、T140、AMD3100)阻断SDF-1/CXCR4信号通路对骨关节炎(OA)软骨细胞表达的影响,为寻找一种高效的OA治疗药物奠定实验基础。**方法** OA软骨细胞随机分成4组,A组、B组、C组分别加入TN14003、T140及AMD3100,D组为对照组。第2天、第4天时,qRT-PCR检测各组软骨细胞Ⅱ型胶原(ColⅡ)mRNA相对表达量,Western blotting检测各组软骨细胞ColⅡ蛋白相对表达量。第10天时,免疫组织化学染色观察各组软骨细胞ColⅡ表达。**结果** 培养第2天、第4天时,4组软骨细胞ColⅡ mRNA和蛋白相对表达量比较:①不同时间点软骨细胞ColⅡ mRNA和蛋白相对表达量有差异($P < 0.05$);②4组软骨细胞ColⅡ mRNA和蛋白相对表达量有差异($P < 0.05$);③4组软骨细胞ColⅡ mRNA和蛋白相对表达量变化趋势有差异($P < 0.05$)。进一步行两两比较,结果提示第2天、第4天时A组软骨细胞ColⅡ mRNA和蛋白相对表达量均高于其他3组($P < 0.05$)。第10天时,免疫组织化学染色发现A组软骨细胞ColⅡ染色最深,B组、C组、D组依次变浅。**结论** TN14003较T140、AMD3100能明显缓解OA软骨关节退变,有望成为一种高效的抗OA治疗药物。

关键词: 骨关节炎;Ⅱ型胶原;软骨细胞;拮抗剂

中图分类号: R684.3

文献标识码: A

Effects of three antagonists on type II collagen in osteoarthritis chondrocytes*

Kun Wang, Xu Wang, Zheng-liang Shi, Zi-wen Ning, Ren-jie He, Kai-yan Dong, Yan-lin Li
(Department of Sports Medicine, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University,
Kunming, Yunnan 650031, China)

Abstract: Objective To explore the effects of three antagonists (TN14003, T140, AMD3100) on type II collagen in OA chondrocytes through targeted blocking SDF-1/CXCR4 signaling pathway, and to lay an experimental basis in order to find a novel agent for the treatment of osteoarthritis. **Methods** OA chondrocytes were divided into four groups randomly, among which added TN14003, T140, and AMD3100 respectively to the Group A, B, and C, while the Group D was selected as a control group. On the 2nd and 4th day after drug intervention, chondrocytes in four groups were harvested for measuring mRNA levels of type II collagen with qPCR, and protein levels of type II collagen with Western blotting. On the 10th day, the expressions of type II collagen in OA chondrocytes in four groups were observed by Immunohistochemical staining. **Results** The chondrocytes of group of variance was performed to compared the relative expression levels of type II collagen mRNA and protein of cells in four groups. The results showed that the relative expression levels of collagen type II mRNA and protein were different among distinct time points ($P < 0.05$); the relative expression levels of type II collagen mRNA and protein

收稿日期: 2022-01-15

* 基金项目: 国家自然科学基金(No.:81960409, No.:81760403); 云南省骨关节疾病临床医学中心项目(No.:ZX2019-03-04); 云南省卫生健康委员会医学后备人才培养计划(No.:H-2019071); 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项青年博士项目[No.: 2019FE001(-137)]

[通信作者] 李彦林, E-mail: 852387873@qq.com

were different among distinct groups ($P < 0.05$); the change trends of relative expression levels of type II collagen mRNA and protein of cells were different among the groups ($P < 0.05$). Further pair-wise comparison showed that the relative expression levels of type II collagen mRNA and protein in group A were also higher than those in group B, C and D at days 2 and 4 ($P < 0.05$). The result of immunohistochemical staining for type II collagen showed that collagen staining was the deepest in group A, and that was gradually lighter in group B, C, and D. **Conclusion** Compared with T140 and AMD3100, TN14003 can significantly slow down the degradation on type II collagen in OA chondrocytes, and is expected to be a highly effective anti-OA drug.

Keywords: osteoarthritis; collagen II; chondrocyte; antagonist

骨关节炎 (Osteoarthritis, OA) 是一种世界范围内的老年性常见疾病, 目前约有 2.5 亿人受 OA 的困扰, 是老年人致残的主要原因之一^[1]。迄今尚无药物可使 OA 的病理进程逆转或停止, 不能从根本上治愈, 致使许多终末期 OA 患者不得不通过手术治疗来恢复关节功能和消除疼痛。因此, 发现一种安全、有效的抗 OA 药物是科学界长期研究的热点与目的。基质细胞衍生因子-1 (stromal cell derived factor-1, SDF-1) 是一种 8 kD 趋化因子, 其通过与趋化因子受体 4 (C-X-C chemokine receptor type 4, CXCR4) 结合而发挥作用。近年来, 研究发现 SDF-1/CXCR4 信号通路在 OA 患者软骨退变的病理进程中起关键性作用^[2-3], CXCR4 拮抗剂通过阻断 SDF-1/CXCR4 信号通路而防止 OA 患者关节软骨退变^[4], CXCR4 拮抗剂由于具有显著的延缓关节软骨退变作用而有望成为一种抗 OA 药物。目前研究较多的 CXCR4 拮抗剂主要有 TN14003、T140 及 AMD3100, 但关于这 3 种小分子拮抗剂的对比研究甚少。本研究通过对这 3 种小分子拮抗剂的比较, 旨在找到一种高效、安全的 OA 治疗药物。前期实验研究^[5-6]表明, CXCR4 拮抗剂 (T140、AMD3100) 均具有延缓关节软骨退变的实验疗效, 但 T140 生物稳定性欠佳, 而 AMD3100 是一种部分拮抗剂, 其拮抗效率低于 T140^[7]。TN14003 是 T140 的衍生物, 是一种 CXCR4 受体安全、有效、稳定的完全拮抗剂, 目前主要用于抗肿瘤、抗人类免疫缺陷病毒 (HIV) 等方面的研究^[8], 但应用于 OA 方面研究较少。II 型胶原 (Collagen II, Col II) 是由软骨细胞分泌并构成关节软骨的主要基质, 研究认为软骨细胞内 Col II 的降解往往与 OA 病理进程有关, Col II 是量化 OA 退变程度和研究抗 OA 药物疗效的主要观察指标。本研究深入比较 TN14003、T140、AMD3100 靶向阻断 SDF-1/CXCR4 信号通路对人 OA 软骨细胞 Col II 的影响, 为探寻高效的 OA 靶向治疗药物奠定研究基础。

1 材料与方法

1.1 人 OA 软骨组织标本获取

收集昆明医科大学第一附属医院 2016 年 1 月—2017 年 1 月行膝关节置换术患者截骨后留下的骨表面软骨组织标本 (改良 Mankin 评分为 0 分或 1 分)。收集标准: 采用中华医学会骨科学分会制订的《骨关节炎诊治指南 (2007 版)》的膝骨关节炎诊断标准^[9], 以此标准为参考纳入 OA 患者。排除标准: 化脓性关节炎、创伤性骨关节炎、痛风性关节炎、类风湿性关节炎等其他类型关节炎。本研究经医院医学伦理委员会批准, 软骨组织标本的采集均获得患者知情同意。

1.2 主要实验试剂与仪器

本实验在昆明医科大学生物医学工程研究中心完成。TN14003 冻干粉、T140 冻干粉 (北京中科亚光生物科技有限公司), AMD3100 冻干粉、SDF-1 冻干粉 (美国 PeproTech 公司), 特级胎牛血清 (美国 Sigma 公司), Trizol Reagent 总 RNA 提取试剂盒 [天根生化科技 (北京) 有限公司], PrimeScript[®] RT Reagent Kit 试剂盒、Premix Ex Taq[™] II 试剂盒 (中国大连 TaKaRa 公司), BCA 蛋白浓度测定试剂盒 [天根生化科技 (北京) 有限公司], 自动温控细胞培养箱 (美国赛默飞世尔科技公司), PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 人 OA 软骨细胞培养及实验分组

无菌条件下将人 OA 软骨组织块切成 1 mm³ 的碎块, 采用胰酶联合 II 型胶原酶两步消化法体外培养 OA 原代软骨细胞, 用甲苯胺蓝染色鉴定。当培养瓶内原代软骨细胞长满约 95% 时用胰酶消化并传代, 经过第 1 次传代后为 P1 代 OA 软骨细胞。由于 OA 软骨细胞多次传代后容易衰老并失去软骨细胞生物学特性, 因此本实验选用 P1 代 OA 软骨细胞作为实验细胞。将 P1 代 OA 软骨细胞随机分成

A 组、B 组、C 组、D 组, 其中, A 组(TN14003 组) 1 000 nmol/L TN14003 和 100 ng/mL SDF-1; B 组(T140 组) 内含有 1 000 nmol/L T140 和 100 ng/mL SDF-1; C 组(AMD3100 组) 浓度为 1 000 nmol/L AMD3100 和 100 ng/mL SDF-1; D 组(SDF-1 组) 仅有 100 ng/mL SDF-1。各小分子拮抗剂浓度参考 TN14003 等小分子拮抗剂的药理特性及笔者前期研究进行^[4]。

1.4 实验方法

A 组、B 组、C 组分别预先加入 1 000 nmol/L 的 TN14003、T140 及 AMD3100 拮抗剂 1 h, 然后 4 组同时加入 100 ng/mL 的 SDF-1, 放入 37℃、5% 二氧化碳恒温培养箱中培养。4 组细胞每隔 4 d 换液 1 次, 每组细胞培养基为含 15% 胎牛血清及双抗(100 u/mL 青霉素+0.1 mg/mL 链霉素)的高糖 DMEM 培养基。

1.4.1 qRT-PCR 检测 4 组细胞在加药干预培养第 2 天、第 4 天时进行 qRT-PCR 检测, 按以下步骤进行, 并重复 3 次。Trizol 提取 OA 软骨细胞总 RNA, RNA 变性电泳观察 18 s、28 s 条带, 用紫外分光光度计分别在波长为 260 nm 和 280 nm 处检测吸光度, 260/280 nm 吸光度比值为 1.8~2.0。取该比值区间的 RNA 进行后续实验。待检测 RNA 纯度和浓度符合上述标准后, 参照 Prime Script[®]RT Reagent Kit 试剂盒说明书进行逆转录反应。根据引物设计原则, 使用 Primers Express Software 软件设计各基因引物, 委托安徽通用生物公司合成各基因引物。实验过程参照 Premix Ex Taq[™] II 试剂盒说明书操作, 扩增反应条件: 95℃ 预变性 15 min, 95℃ 变性 10 s, 60℃ 退火 30 s, 60℃ 延伸 30 s, 共 40 个循环。以 GAPDH 为内参对照, 计算目的基因 Col II mRNA 相对表达量($2^{-\Delta\Delta Ct}$)。引物序列见表 1。

1.4.2 Western blotting 检测 4 组细胞在加药干预培养第 2 天、第 4 天用磷酸盐缓冲液(PBS)洗 3 次

后进行 Western blotting 检测。首先用 RIPA 裂解液提取各组软骨细胞总蛋白, 然后用 BCA 法测定总蛋白浓度, 计算上样缓冲液中总蛋白含量并使各组总蛋白水平相等。在浓缩胶上进行 SDS-PAGE 电泳 30 min 至样本到分离胶上, 继续用分离胶将样本蛋白质进行分离, 然后电转移至 PVDF 膜进行抗原抗体杂交反应。将转膜后的 PVDF 膜浸入 5% 的脱脂奶粉室温下封闭 1 h, 用 TBST 缓冲液洗涤后加入一抗(鼠抗人 Col II 单克隆抗体, 1:2 000)并旋转摇动 4℃ 过夜, 再次用 TBST 洗涤后加二抗(羊抗鼠 IgG, 1:5 000)并室温下孵育 2 h。在暗室内加入免疫印迹化学发光试剂曝光显影, 图像分析软件(Image J)进行目标蛋白和 β -actin 的光密度测定, 用目标条带与 β -actin 光密度比值反映蛋白相对表达量。

1.4.3 Col II 免疫组织化学染色 在 6 孔板内预先放置无菌盖玻片, 每孔内加入 0.5×10^5 个/mL 的细胞悬液 2 mL 进行细胞爬片, 2 d 后用 PBS 洗 2 次, 再加入药物进行干预, 在培养至第 10 天时收集细胞爬片进行 Col II 免疫组织化学染色。具体染色步骤如下: 首先将细胞爬片用 4% 多聚甲醛室温下固定以便于保存细胞形态, 然后用 0.5% Triton 室温穿孔利于染色, 接下来用甲醇+30% H₂O₂ 溶液(50:1)室温下避光封闭及 5% 山羊血清(BSA)室温下封闭以阻断非特异位点, 加入 5% BSA 稀释的一抗(兔抗人 Col II 单克隆抗体, 1:100)和生物素化二抗(羊抗兔 IgG)进行抗原抗体反应, 最后用 DAB 染色液室温下显色, 苏木精复染细胞核, 经脱水、透明及封固处理后, 倒置光学显微镜下观察, 细胞内呈棕褐色为阳性染色。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 25.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组比较用重复测量设计的方差分析, 进一步两两比较用 SNK-*q* 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组软骨细胞 Col II mRNA 相对表达量的比较

A 组、B 组、C 组、D 组软骨细胞在第 2 天、第 4 天时 Col II mRNA 相对表达量比较, 采用重复测量设计

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列	引物长度/bp
Col II	正向: 5'-AAGGATGTGTGGAAGCCGGA-3'	101
	反向: 5'-CTGAGGCAGTCTTTTCACGTCT-3'	
GAPDH	正向: 5'-TGTTGCCATCAATGACCCCT-3'	177
	反向: 5'-TCGCCCACTTGATTTTGGA-3'	

的方差分析, 结果: ①不同时间软骨细胞 Col II mRNA 相对表达量有差异 ($F=37.080, P=0.000$); ②4 组软骨细胞 Col II mRNA 相对表达量有差异 ($F=587.799, P=0.000$); ③4 组软骨细胞 Col II mRNA 相对表达量变化趋势有差异 ($F=4.290, P=0.044$)。进一步行两两比较, A 组软骨细胞 Col II mRNA 相对表达量高于 B 组、C 组、D 组 ($P<0.05$), 且 C 组低于 B 组 ($P<0.05$), D 组低于 C 组 ($P<0.05$); 随着时间延长, 各组软骨细胞 Col II mRNA 相对表达量逐步减弱 ($P<0.05$), A 组减弱程度相对较小。见表 2。

表 2 各组软骨细胞 Col II mRNA 相对表达量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	第 2 天	第 4 天
A 组	1.35 ± 0.09 ^{①②③}	1.25 ± 0.17 ^{①②③④}
B 组	1.08 ± 0.06 ^{②③}	0.62 ± 0.03 ^{②③④}
C 组	0.53 ± 0.03 ^③	0.37 ± 0.04 ^{③④}
D 组	0.24 ± 0.02	0.04 ± 0.03 ^④

注: ①与 B 组比较, $P<0.05$; ②与 C 组比较, $P<0.05$; ③与 D 组比较, $P<0.05$; ④与第 2 天比较, $P<0.05$ 。

2.2 各组软骨细胞 Col II 蛋白相对表达量的比较

A 组、B 组、C 组、D 组软骨细胞第 2 天、第 4 天 Col II 蛋白相对表达量比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间软骨细胞 Col II 蛋白相对表达量有差异 ($F=669.597, P=0.000$); ②4 组软骨细胞 Col II 蛋白相对表达量有差异 ($F=122.315, P=0.000$); ③4 组软骨细胞 Col II 蛋白相对表达量变化趋势有差异 ($F=47.708, P=0.000$)。进一步行两两比较, A 组软骨细胞第 2 天时 Col II 蛋白相对表达量高于 B 组、C 组、D 组 ($P<0.05$), 且 C 组、D 组低于 B 组 ($P<0.05$); A 组软骨细胞第 4 天时 Col II 蛋白相对表达量高于 B、C、D 组 ($P<0.05$), 且 C 组低于 B 组 ($P<0.05$), D 组低于 C 组 ($P<0.05$); 随着时间延长, 各组软骨细胞 Col II 蛋白相对表达量减弱 ($P<0.05$)。见表 3。

A 组、B 组、C 组、D 组软骨细胞第 2 天和第 4 天 Col II 蛋白相对表达量经灰度分析, 结果显示: 同一时间点, A 组软骨细胞中 Col II 灰度最深, B 组、C 组、D 组依次变浅; 随着培养时间延长, 各组软骨电泳条带的灰度也呈变浅趋势。见图 1。

表 3 各组软骨细胞 Col II 蛋白相对表达量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	第 2 天	第 4 天
A 组	1.00 ± 0.01 ^{①②③}	0.92 ± 0.01 ^{①②③④}
B 组	0.80 ± 0.03 ^{②③}	0.51 ± 0.03 ^{②③④}
C 组	0.74 ± 0.05	0.41 ± 0.09 ^{③④}
D 组	0.67 ± 0.01	0.23 ± 0.01 ^④

注: ①与 B 组比较, $P<0.05$; ②与 C 组比较, $P<0.05$; ③与 D 组比较, $P<0.05$; ④与第 2 天比较, $P<0.05$ 。

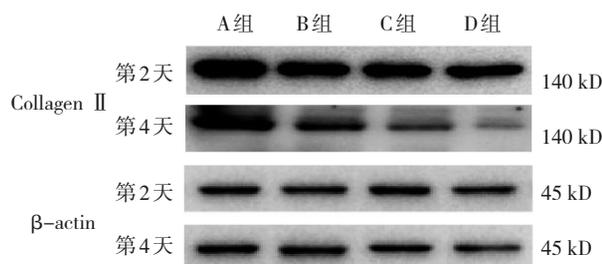
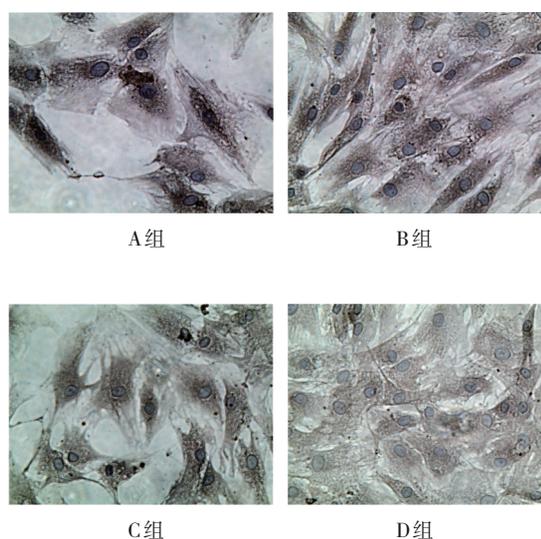


图 1 各组软骨细胞 Col II 蛋白电泳图

2.3 Col II 免疫组织化学染色结果

A 组、B 组、C 组、D 组软骨细胞加药干预培养至第 10 天时进行免疫组织化学染色后发现, A 组内细胞核周围胞质内棕褐色染色最深, B 组次之, C 组及 D 组染色较浅 (见图 2)。说明加药干预培养至第 10 天时, A 组软骨细胞内 Col II 蛋白含量最高。



棕褐色代表 Col II 蛋白, 可见 A、B、C、D 4 组细胞质内棕褐色逐渐变浅。

图 2 各组软骨细胞 Col II 免疫组织化学染色结果

($\times 400$)

3 讨论

OA是常见的慢性致残性疾病,目前尚无一种有效的药物可以根治OA,只能针对性给予对症治疗^[10-11]。目前临床上较多的是采取关节腔注射玻璃酸钠等对症治疗^[12],我国每年用于治疗OA的费用高达数亿元。因此,找到一种能延缓OA甚至根治OA的药物是临床急需解决的问题。

OA的主要病理改变为软骨退行性改变。软骨细胞是软骨组织中唯一的细胞,可以合成并分泌Col II,其生物学特征的变化与OA的发生发展密切相关^[13]。软骨细胞对软骨的正常结构与功能发挥着重要作用,软骨细胞合成及分泌Col II异常在OA的发生过程中起到重要的作用。软骨细胞中Col II的含量变化直接关系到软骨组织的退变情况,所以Col II成为OA实验研究的主要观测指标。因此,为了初步验证TN14003、T140及AMD3100在延缓关节软骨退变方面的疗效,本研究主要观察这3种小分子药物对人OA软骨细胞Col II的影响。

SDF-1在OA患者膝关节液中含量明显高于正常膝关节液中的含量,SDF-1含量与OA的严重程度呈正相关,甚至发现SDF-1与软骨下骨硬化有关^[14]。在膝关节中,CXCR4是SDF-1的特异性受体,两者结合后通过启动SDF-1/CXCR4信号通路而引起软骨退变等一系列生物学反应^[2, 15]。因此,目前认为SDF-1/CXCR4信号通路在OA的发生发展过程中起关键作用。

CXCR4拮抗剂可以有效阻断SDF-1/CXCR4信号通路进而延缓关节软骨退变,部分CXCR4拮抗剂已被用于防治OA的研究中,其中研究较多的有AMD3100和T140^[5-7]。有研究^[7]证明,AMD3100是一种结合紧密且可以缓慢可逆的小分子非肽类CXCR4拮抗剂,具有弱激动剂的部分作用,其阻断效率不完全,属于CXCR4不完全拮抗剂。T140是CXCR4受体的小分子肽类完全拮抗剂,相对于AMD3100而言,其拮抗效率更高,特异性更强,但稳定性稍差^[7]。TN14003是T140的衍生物,也是含有14个氨基酸的小分子多肽,通过将T140的羧基端氨基化等修饰后,TN14003拮抗效率较T140有所提高,稳定性好且细胞毒性低^[8]。从这3种小分子拮抗剂的拮抗效率来看,TN14003显然高于其他2个拮抗剂,这从本实验结果中也可以得到验证。

本研究中,笔者将TN14003、T140、AMD3100分别对应A组、B组及C组,D组作为对照组。由于OA患者关节液中存在较高浓度的SDF-1,因此笔者在4组培养基中均加入了SDF-1,以观察这3种小分子拮抗剂阻断SDF-1/CXCR4信号通路后的情况。通过qRT-PCR检测各组软骨细胞Col II mRNA相对表达量后发现,随着培养时间延长,Col II mRNA相对表达量逐渐下降,估计与SDF-1持续作用于软骨细胞引起软骨细胞减少基质的合成有关。同时还发现,A组中Col II mRNA相对表达量均高于其他组,B组、C组、D组中Col II mRNA相对表达量依次递减,说明TN14003可以更好地抵抗SDF-1对软骨细胞Col II mRNA的影响,T140稍逊色于TN14003而优于AMD3100。Western blotting检测发现,A组软骨细胞内Col II蛋白相对表达量随着干预时间延长而逐渐减少,A组细胞内Col II蛋白相对表达量均高于B组、C组、D组,说明TN14003较T140及AMD3100而言,能更好地拮抗SDF-1对软骨细胞中Col II蛋白的降解,进而能更好地延缓软骨的退变。最后通过免疫组织化学染色鉴定4组软骨细胞中Col II的表达,体外给予TN14003、T140及AMD3100干预培养至第10天时,A组中Col II染色最深,B组次之,而C组和D组染色最浅。说明100 ng/mL的SDF-1可以促进软骨细胞内Col II的降解,而TN14003、T140及AMD3100可以延缓SDF-1引起的OA软骨细胞Col II的降解,同时发现TN14003的延缓效应也是最佳的,这与笔者前期的动物实验趋势是一致的^[16]。

因此,可以这样认为,TN14003在缓解人OA软骨关节退变优于T140及AMD3100。但是,TN14003作为一种多肽类小分子拮抗剂,药物的稳定性、毒性等问题也是将来需要考虑及观察的问题,后期还需要进一步实验进行验证甚至改进,期待不久的将来临床上能用上一种高效、安全的延缓OA靶向治疗药物。

参 考 文 献 :

- [1] HUNTER D J, BIERMA-ZEINSTRAS S. Osteoarthritis[J]. *Lancet*, 2019, 393(10182): 1745-1759.
- [2] 何映红,李彦林,向耀宇,等. SDF-1/CXCR4及下游信号通路在骨性关节炎病程中的作用[J]. *实用医学杂志*, 2019, 35(22): 3563-3567.
- [3] QIN H J, ZHAO X Q, HU Y J, et al. Inhibition of SDF-1/CXCR4

- axis to alleviate abnormal bone formation and angiogenesis could improve the subchondral bone microenvironment in osteoarthritis[J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 8852574.
- [4] JIA D, LI Y L, HAN R, et al. miR-146a-5p expression is upregulated by the CXCR4 antagonist TN14003 and attenuates SDF-1-induced cartilage degradation[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(5): 4388-4400.
- [5] 李建, 李彦林, 王鑫, 等. AMD3100 体内干预 SDF-1/CXCR4 信号通路对关节软骨组织退变的影响[J]. *中国运动医学杂志*, 2015, 34(1): 37-41.
- [6] WANG K, LI Y L, HAN R, et al. T140 blocks the SDF-1/CXCR4 signaling pathway and prevents cartilage degeneration in an osteoarthritis disease model[J]. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0176048.
- [7] ZHANG W B, NAVENOT J M, HARIBABU B, et al. A point mutation that confers constitutive activity to CXCR4 reveals that T140 is an inverse agonist and that AMD3100 and ALX40-4C are weak partial agonists[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(27): 24515-24521.
- [8] PELED A, ABRAHAM M, AVIVI I, et al. The high-affinity CXCR4 antagonist BKT140 is safe and induces a robust mobilization of human CD34⁺ cells in patients with multiple myeloma[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(2): 469-479.
- [9] 中华医学会骨科学分会. 骨关节炎诊治指南(2007年版)[J]. *中华骨科杂志*, 2007, 27(10): 793-796.
- [10] SHARMA L. Osteoarthritis of the knee[J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(1): 51-59.
- [11] KULKARNI P, MARTSON A, VIDYA R, et al. Pathophysiological landscape of osteoarthritis[J]. *Adv Clin Chem*, 2021, 100: 37-90.
- [12] 牛敏, 杨西超, 米娜瓦尔·卡尔曼, 王文涛, 等. 双醋瑞因联合玻璃酸钠治疗膝骨关节炎的疗效分析[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(4): 21-25.
- [13] CHENG H B, HAO B X, SUN J T, et al. C-terminal cross-linked telopeptides of type II collagen as biomarker for radiological knee osteoarthritis: a meta-analysis[J]. *Cartilage*, 2020, 11(4): 512-520.
- [14] QIN H J, XU T, WU H T, et al. SDF-1/CXCR4 axis coordinates crosstalk between subchondral bone and articular cartilage in osteoarthritis pathogenesis[J]. *Bone*, 2019, 125: 140-150.
- [15] WANG Y P, BAI S L, CHENG Q, et al. Naringenin promotes SDF-1/CXCR4 signaling pathway in BMSCs osteogenic differentiation[J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2021, 59(1): 66-73.
- [16] WANG G L, LI Y L, MENG X H, et al. The study of targeted blocking SDF-1/CXCR4 signaling pathway with three antagonists on MMPs, type II collagen, and aggrecan levels in articular cartilage of guinea pigs[J]. *J Orthop Surg Res*, 2020, 15(1): 195.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 王坤, 王旭, 施政良, 等. 3种小分子拮抗剂对骨关节炎软骨细胞的作用[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(15): 47-52.

Cite this article as: WANG K, WANG X, SHI Z L, et al. Effects of three antagonists on type II collagen in osteoarthritis chondrocytes[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(15): 47-52.