

本文引用:冯帅华,吴官保,文哲,姚红艳,姚顺骞,张森,仇湘中.超微肿痛贴对兔膝关节炎模型的软骨中JNK/p38 MAPK信号通路的影响[J].湖南中医药大学学报,2022,42(1):31-36.

超微肿痛贴对兔膝关节炎模型的软骨中 JNK/p38 MAPK 信号通路的影响

冯帅华¹,吴官保^{1*},文哲²,姚红艳²,姚顺骞²,张森³,仇湘中¹

(1.湖南省中医药研究院附属医院,湖南长沙410006;2.湖南中医药大学,湖南长沙410208;
3.湘潭市中医院,湖南湘潭411100)

[摘要] 目的 观察超微肿痛贴对兔膝关节炎(knee osteoarthritis, KOA)模型的JNK/p38 MAPK信号通路的mRNA及蛋白表达的影响。方法 将50只3月龄新西兰兔随机分为空白组、模型组、氟比洛芬凝胶贴膏组、超微肿痛贴组,每组各12只,除空白组外,其他3组均采用木瓜蛋白酶膝关节腔注射方式造模。造模成功后,超微肿痛贴组予超微肿痛贴贴于右膝关节,每日1次,每次6h,连续给药4周。氟比洛芬凝胶贴膏组予氟比洛芬凝胶贴膏贴于右膝关节,每日1次,每次6h,连续给药4周。干预4周后空气栓塞法处死所有实验兔,观察各组关节软骨Mankin's评分;ELISA法检测关节液中TNF- α 水平;采用RT-PCR检测关节软骨细胞中JNK和p38 MAPK mRNA的相对表达量;Western blot检测软骨中p38 MAPK、JNK、MMP-13蛋白表达。结果 超微肿痛贴组与氟比洛芬凝胶贴膏组关节软骨Mankin's评分及关节液中TNF- α 表达水平显著低于模型组($P<0.05$),并且JNK和p38 MAPK mRNA的表达水平,及p38 MAPK、JNK、MMP-13蛋白表达水平较模型组均显著下降($P<0.05$),超微肿痛贴组各指标与氟比洛芬凝胶贴膏组相比,差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 超微肿痛贴能够有效减轻兔KOA的软骨损伤,调控关节软骨JNK/p38 MAPK信号通路,抑制软骨MMP-13表达,减少关节液中TNF- α 表达水平,这可能为其治疗KOA的部分作用机制。

[关键词] 膝骨关节炎;超微肿痛贴;关节软骨;MAPK信号通路;软骨损伤

[中图分类号]R274.9 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.01.007

Effect of Chaowei Zhongtong Patch on JNK/p38 MAPK signaling pathway in cartilage of rabbit knee osteoarthritis model

FENG Shuaihua¹, WU Guanbao^{1*}, WEN Zhe², YAO Hongyan², YAO Shunqian², ZHANG Miao³, QIU Xiangzhong¹

(1. Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410006, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 3. Xiangtan Hospital of Traditional Chinese
Medicine, Xiangtan, Hunan 411100, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of Chaowei Zhongtong Patch on the mRNA and protein expression of JNK/p38 MAPK signaling pathway in rabbit knee osteoarthritis (KOA) model. **Methods** A total of 50 3-month old New Zealand rabbits were randomly divided into blank group, model group, flurbiprofen cataplasm group and Chaowei Zhongtong Patch group, with 12 rabbits in each group; except for the blank group, the other three groups were injected with papain into knee joint cavity for modeling. After the successful modeling, the Chaowei Zhongtong Patch group was applied Chaowei Zhongtong Patch to the right knee joint, once a day, for 6 h each time, for 4 weeks. Flurbiprofen cataplasm group was given flurbiprofen gel patch on right knee joint, once a day, 6 h each time, for 4 weeks. After 4 weeks of intervention, all rabbits were killed by air embolism, then the Mankin's score

[收稿日期]2021-04-05

[基金项目]国家中医药管理局全国名老中医专家仇湘中传承工作室建设项目(国中医药人教[2016]42号);湖南省自然科学基金面上项目(2018JJ2235);湖南省教育厅科学研究项目(17C1218)。

[第一作者]冯帅华,男,硕士研究生,主治医师,研究方向:骨关节病的中药防治研究。

[通信作者]*吴官保,男,博士,主任医师,硕士研究生导师,E-mail: yhywgb@126.com。

of articular cartilage of each group was observed; TNF- α level in synovial fluid was detected by ELISA; relative expression levels of JNK and p38 MAPK mRNA in articular chondrocytes were tested by RT-PCR; the protein expression levels of p38 MAPK, JNK and MMP-13 in articular cartilage were detected by Western blot. **Results** The Mankin's score of articular cartilage and the expression level of TNF- α in synovial fluid of the Chaowei Zhongtong Patch group were significantly lower than those in the model group ($P < 0.05$), and the expression levels of JNK and p38 MAPK mRNA and the protein expression levels of p38 MAPK, JNK and MMP-13 of the Chaowei Zhongtong Patch group were remarkably declined compared with those in the model group ($P < 0.05$), there were no statistical significances between Chaowei Zhongtong Patch group and flurbiprofen cataplasm group ($P > 0.05$). **Conclusion** Chaowei Zhongtong Patch can effectively reduce the cartilage damage of rabbit KOA, regulate JNK/p38 MAPK signaling pathway, inhibit the expression levels of MMP-13 in cartilage, and decrease the expression level of TNF- α in synovial fluid, which may be part of its acting mechanisms in the treatment of knee KOA.

[**Keywords**] knee osteoarthritis; Chaowei Zhongtong Patch; joint cartilages; cartilage damage

膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是一种最常见的退行性关节病,我国目前有3%的人患有骨关节炎(osteoarthritis, OA),并且有逐年增加趋势,其中绝大部分为KOA^[1]。目前,OA的发病机制尚不完全明确,但具有相似的病理学改变,主要表现为进行性关节软骨的变性、破坏甚至缺损,软骨下骨囊性变,骨赘形成等特点^[2]。中医学在非手术治疗方面有较强的成就,其中中医外用膏剂外敷治疗有简单、方便并效果显著的特点,已被广泛应用于临床^[3]。超微肿痛贴是湖南省中医药研究院附属医院自制中药外用膏剂,是蔡光先教授经验方“肿痛消巴布膏”(专利授权号:ZL200910043351.X)改革剂型,多项研究证实了其疗效^[4-9]。对此,本研究借助病理学及分子生物学等技术手段,研究超微肿痛贴对兔KOA模型的干预作用,探讨其部分作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选择3月龄普通级新西兰兔50只,体质量(2.0~2.5)kg,雌雄各半,由湖南省中医药研究院动物实验室提供,许可证号:SYXK(湘)2015-0008。经检疫后在湖南省中医药研究院动物实验中心饲养,单笼喂养,适应性喂养1周后开始实验。

1.2 药物与试剂

超微肿痛贴:湖南省中医药研究院附属医院院内制剂,由湖南省中医药研究院附属医院药剂制备室生产(批号:201808J),该方主要中药材成分是:延胡索、大黄、菟丝子、熟地黄、川芎、当归、没药、乳香、红花、蒲黄、姜黄、莪术、白芷、栀子、香附、冰片。含药量:每100 cm²不少于7.5 g(浸膏)。规格:9 cm×7 cm。

氟比洛芬凝胶贴膏:日本三笠制药株式会社(批号:402194)。规格:13.6 cm×10.0 cm。木瓜蛋白酶(美国Genview公司,批号:SH00104);苏木素、伊红、BCA蛋白定量试剂盒(上海威奥生物科技有限公司,批号:GX-6024、GG1605、UDT180009-6);兔TNF- α ELISA试剂盒(南京森贝伽生物科技有限公司,批号:20175127);MMP-13、p38 MAPK、 β -actin抗体(美国Proteintech Group公司,批号:20170719、20170911、20180199);JNK抗体(英国Abcam公司,批号:20170524);RIPA裂解液(长沙维世尔生物科技有限公司,批号:JN17017);Trizol(美国英杰生命技术有限公司,批号:20170911);DEPC、EDTA、Tris(美国Sigma-Aldrich公司,批号:2045512CP、1845112CP、1845131CP);DNA Marker、逆转录试剂盒、UltraSYBR Mixture(北京康为世纪生物科技有限公司,批号:D181091、J180159、M171581)。

1.3 主要仪器

显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司,型号:BA210T);切片机(金华市益迪医疗设备有限公司,型号:YD-315);包埋机(常州市中威电子仪器有限公司,型号:BMJ-A);摇床、旋涡混合器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司,型号:TS-92、QL-901);电泳仪及电泳槽(美国伯乐Bio-rad公司,型号:164-5050);台式冷冻离心机(深圳黑马有限公司,型号:TGL-18R);磁力搅拌器(常州荣华仪器制造有限公司,型号:a85-1);荧光定量RCP仪、荧光PCR板(美国Thermo Fisher Scientific公司,型号:PIKO REAL 96、SPL0960)。

1.4 造模与分组

50只实验兔,随机抽取12只作为空白组,其

余38只用膝关节注射木瓜蛋白酶的方式进行兔KOA模型的造模。方法:实验兔刮除后肢右膝关节周围兔毛,微屈膝,由髌韧带内侧缘凹陷处进针,以0.1 mL/kg用量将5%木瓜蛋白酶注射到膝关节腔。第1、3、5天各注射1次,并常规饲养4周后,可得到兔KOA模型^[10]。然后随机抽取2只,空气栓塞法处死,解剖右膝发现软骨面暗淡、粗糙,取软骨标本HE染色后光镜下观察,软骨破坏、潮线欠流畅,提示造模成功。见图1。

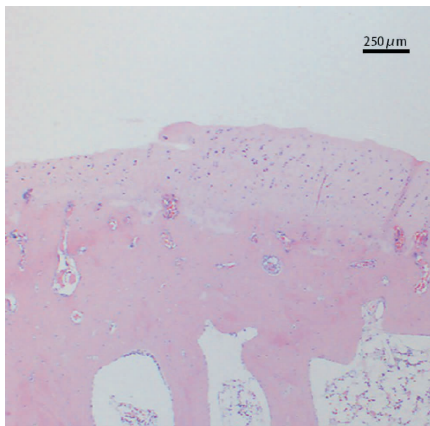


图1 进行造模的兔膝关节软骨病理形态(HE,×40)

造模成功后将已造模的36只实验兔分为模型组、氟比洛芬凝胶贴膏组、超微肿痛贴组,每组12只,雌雄各半。

1.5 实验给药方案

按动物与人体表比换算法得出兔膝关节超微肿痛贴用量大小为:2.39 cm×1.86 cm。造模4周后,开始予药物干预。超微肿痛贴组:予超微肿痛贴贴于右膝关节(为防止撕咬及脱落,予医用胶布及绷带固定,固定后观察兔的活动,以不影响正常活动为标准,并每1 h巡查1次),每日1次,每次6 h,连续给药4周。氟比洛芬凝胶贴膏组:用量大小为3.60 cm×2.65 cm,以同样的固定方法固定药物,每日1次,每次6 h,连续给药4周。

1.6 取材及指标检测

1.6.1 取材及处理 治疗4周后行空气栓塞法处死4组兔子。取材方法如下:(1)兔子处死后首先在右

侧膝关节暴露髌上囊,在髌上囊处切开一小口,用注射器灌注灭菌生理盐水1 mL,灌注后充分活动膝关节,挤压并回抽收集关节液,上述操作反复3次致收集3 mL关节液。经离心后取上清液置于-20℃冰箱中保存。(2)再打开关节囊,暴露膝关节腔,切断交叉韧带,清理半月板。然后离断关节,取右侧股骨内侧髌进行清洗,经固定、冲洗、脱钙、浸蜡、包埋、切片、HE染色等处理后光镜下观察软骨形态结构。(3)用刀片切取股骨外侧髌关节面全层软骨,并保存在液氮中,以备进行检测。

1.6.2 光镜下观察软骨组织并进行Mankin's评分 将软骨切片进行HE染色后,在光镜下进行形态学观察,进行Mankin's评分^[11]。Mankin's评分根据软骨结构、基质细胞、基质染色、潮线的完整性4个项目的总分,评估兔膝关节软骨损伤程度,评分越高表示软骨损伤程度越严重。

1.6.3 ELISA法检测关节液中TNF-α水平 将备好的关节液常温化冻,用ELISA试剂盒严格按照产品说明书检测关节液中TNF-α水平。

1.6.4 RT-PCR法检测软骨中p38 MAPK及JNK mRNA相对表达量 取保存好的兔膝软骨组织提取总RNA,测浓度后逆转录合成cDNA。在NCBI上搜索目的基因的序列,运用primer 5软件设计引物,由上海生工合成引物。逆转录产物采用荧光定量PCR反应:在PCR反应体系中加入过量SYBR荧光材料,测得扩增荧光曲线,再用LightCycler数据分析软件分析RT-PCR实验目的基因的扩增溶解曲线,获得目的基因和GAPDH的CT值,随后算出目的基因相对表达量,再进行统计分析。引物序列见表1。

1.6.5 Western blot检测软骨中p38 MAPK、JNK及MMP-13蛋白表达 取备用的兔膝关节软骨,软骨组织研磨后,并提取总蛋白,BCA法进行蛋白定量,随后进行Western blot电泳分离,随后转移到NC膜上;用5%脱脂奶粉封闭1.5 h,将按照一定比例(MMP-13为1:750,p38 MAPK为1:750,JNK为1:2000,β-actin为1:5000)稀释的一抗溶液与膜一起孵育,保存在4℃冰箱中过夜;TBST洗3次后进行二抗孵

表1 各基因引物表

目的基因	正向	反向	长度/bp
JNK	AGCACATTGGAATTCATGACC	ATGCCAAAAGCTTACAGATGACC	176
p38 MAPK	ATGCCAAAAGCTTACAGATGACC	ATCATCAGTGTGTCGCCCAA	178
GAPDH	TGGAATCCACTGGCGTCTTCAC	AGGATGCCGTTGCTGACAATCTTGA	168

育 90 min;随后用 ECL 化学发光液显色并曝光,最后将曝光后底片进行扫描,用 quantity one 专业灰度分析软件进行分析。

1.7 统计学处理

采用统计软件 SPSS 23.0 对数据进行分析,计量资料采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,若满足正态性和方差齐性,采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法,若方差不齐者用 Tamhane's T2 法,若不满足正态性采用非参数检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 光镜下各组软骨组织的病理改变

空白组 HE 染色光镜下见软骨表面平坦,软骨层无裂纹,细胞数量及分布正常,大小正常,潮线无破坏。模型组显示软骨层较空白组薄,软骨出现较深裂隙,软骨表面不平坦,软骨细胞数量减少,或增多呈簇状分布,潮线不平滑、中断。与模型组相比,氟比洛芬凝胶贴膏组的软骨细胞增多,偶有呈簇状分布,软骨表面较模型组平坦,存在较多小裂隙,潮线欠流畅,偶有中断。超微肿痛贴组软骨细胞常规分布,软骨表面相对平坦,存在小裂隙,潮线欠流畅。Mankin's 评分结果:与空白组相比,模型组、氟比洛芬凝胶贴膏组及超微肿痛贴组评分明显升高($P<0.05$);与模型组相比,氟比洛芬凝胶贴膏组及超微肿痛贴组评分明显降低($P<0.05$);与氟比洛芬凝胶贴膏组相比,超微肿痛贴组的评分稍低,但差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2、图 2。

2.2 各组膝关节液 TNF- α 水平的比较

与空白组相比,模型组、氟比洛芬凝胶贴膏组及超微肿痛贴组 TNF- α 水平明显上调($P<0.05$);与模型组相比,氟比洛芬凝胶贴膏组及超微肿痛贴组的 TNF- α 水平明显下调($P<0.05$);与氟比洛芬凝胶贴

表 2 各组关节软骨 Mankin's 评分比较($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	评分/果
空白组	0.75±0.45
模型组	7.03±1.21 [#]
氟比洛芬凝胶贴膏组	5.19±0.84 ^{**}
超微肿痛贴组	5.08±0.91 ^{**}
F 值	113.54
P 值	0.00

注:与空白组相比,[#] $P<0.05$;与模型组相比,^{*} $P<0.05$

膏组相比,超微肿痛贴组的 TNF- α 水平稍低,但差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 各组 TNF- α 水平比较($\bar{x}\pm s, \text{pg/mL}, n=12$)

组别	TNF- α
空白组	127.75±36.45
模型组	814.58±106.66 [#]
氟比洛芬凝胶贴膏组	594.33±89.78 ^{**}
超微肿痛贴组	566.15±91.71 ^{**}
F 值	136.09
P 值	0.00

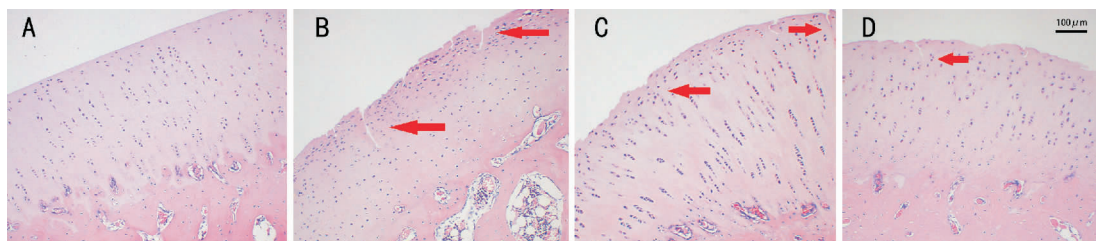
注:与空白组相比,[#] $P<0.05$;与模型组相比,^{*} $P<0.05$

2.3 各组膝关节软骨 p38 MAPK 及 JNK mRNA 相对表达量结果

与正常组相比,模型组、氟比洛芬凝胶贴膏组及超微肿痛贴组的 p38 MAPK 及 JNK mRNA 表达明显上调($P<0.05$);与模型组相比,氟比洛芬凝胶贴膏组及超微肿痛贴组的 p38 MAPK 及 JNK mRNA 表达明显下调($P<0.05$);与氟比洛芬凝胶贴膏组相比,超微肿痛贴组的 p38 MAPK 及 JNK mRNA 表达稍有下调,但差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 4。

2.4 各组膝关节软骨 p38 MAPK、JNK 及 MMP-13 蛋白表达结果

与正常组相比,模型组、氟比洛芬凝胶贴膏组及超微肿痛贴组的 p38 MAPK、JNK、MMP-13 蛋白表达明显上调($P<0.05$);与模型组相比,氟比洛芬凝胶贴膏组及超微肿痛贴组的 p38 MAPK、JNK、MMP-13 的蛋白表达明显下调($P<0.05$);与氟比洛芬凝胶



A.空白组;B.模型组;C.氟比洛芬凝胶贴膏组;D.超微肿痛贴组

图 2 各组兔膝关节软骨病理形态(HE, $\times 100$)

表4 各组关节软骨中 p38 MAPK 及 JNK mRNA 相对表达量比较($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	p38 MAPK mRNA	JNK mRNA
空白组	1.19±0.15	0.98±0.15
模型组	3.11±0.60 [#]	2.76±0.53 [#]
氟比洛芬凝胶贴膏组	2.25±0.31**	2.04±0.37**
超微肿痛贴组	2.06±0.39**	1.92±0.30**
F 值	47.22	48.38
P 值	0.00	0.00

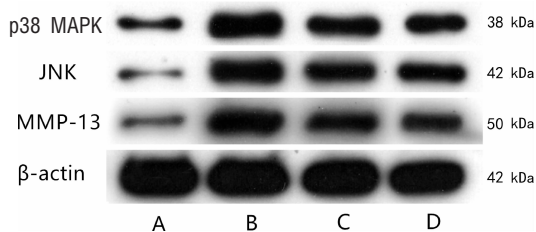
注:与空白组相比,[#] $P<0.05$;与模型组相比,^{*} $P<0.05$

贴膏组相比,超微肿痛贴组的 p38 MAPK、JNK、MMP-13 的蛋白表达稍有下调,但差异无统计学意义($P>0.05$)。见表5、图3。

表5 各组关节软骨中 p38 MAPK、JNK、MMP-13 蛋白表达比较($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	p38 MAPK	JNK	MMP-13
空白组	0.19±0.05	0.11±0.04	0.13±0.04
模型组	0.70±0.13 [#]	0.62±0.08 [#]	0.60±0.12 [#]
氟比洛芬凝胶贴膏组	0.46±0.09**	0.45±0.07**	0.47±0.07**
超微肿痛贴组	0.40±0.09**	0.41±0.06**	0.42±0.09**
F 值	59.36	130.98	65.16
P 值	0.00	0.00	0.00

注:与空白组相比,[#] $P<0.05$;与模型组相比,^{*} $P<0.05$



注:A.空白组;B.模型组;C.氟比洛芬凝胶贴膏组;D.超微肿痛贴组

图3 各组兔膝关节软骨 Western blot 检测结果灰度图

3 讨论

目前,KOA 的发病机制尚不完全明确,但现代医学表明相关炎症因子、细胞合成及代谢因子、激素等与 KOA 发病关系密切^[12]。软骨退变、降解是发病的根本,也是启动骨性关节炎病理进程的首要因素。丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)家族是公认的与 OA 发病发展密切相关的信号通路,包括 p38 MAPK、JNK、ERK 及 ERK5,其中 p38 MAPK 及 JNK 信号通路较为突出^[13]。p38 MAPK 信号通路及 JNK 信号通路在 OA 病理过程中可被炎症因子等多种细胞外应激原导致激活^[14]。

p38 MAPK 的激活不仅可以诱导 MMP-13 的表达,导致进行性降解软骨基质,促进软骨的损伤^[15-16],还可以介导软骨细胞凋亡^[17]。JNK 在 OA 发病、发展中也参与很多软骨损伤途径,但 JNK 主要影响的是 MMPs 的合成,促进关节软骨基质的降解方面,研究中发现激活的 JNK 可引起 MMP-1、MMP-3、MMP-13 水平升高^[18]。TNF- α 是 OA 发生与发展最为重要的致病因子之一,可介导多种炎症反应过程,关节内的 TNF- α 浓度的升高,多种核细胞会被激活,促进关节滑膜细胞分泌 PGE-2,导致血管通透性增加,促进炎症细胞浸润,可加重炎性水肿、疼痛,因此 TNF- α 水平可以客观的表明 OA 的病情程度^[19]。同时, TNF- α 可以与 p38 MAPK 信号通路形成正反馈循环, TNF- α 可诱导 p38 MAPK 的磷酸化,可再促进 TNF- α 的表达^[20]。因而,假如能通过抑制 JNK 与 p38 MAPK 通路的激活,控制炎症因子的表达,从而达到延缓软骨退变,可能具有延缓 OA 病变过程的重要意义,为临床治疗退行性关节疾患提供新的治疗思路。

中医学古籍中无 KOA 病名,中医学根据其发病的部位也命名为“膝痹”。本病的发生与多种因素有关,中医学认为 KOA 发病与肝肾亏虚,风、寒、湿及瘀血客于局部有关,最终导致局部气滞血瘀,经脉痹阻不通而发病。其主要病机是“虚、瘀、毒”^[21],虚主要是肝肾虚,筋骨失养;瘀主要是气滞血瘀,寒凝瘀滞;毒主要是外来之风、寒、湿等邪气,本病主要以肝肾虚为本,外感邪气及气滞血瘀为标。在治疗痹证上,根据辨证运用活血化瘀、祛风除湿、补益肝肾等药物^[22]。超微肿痛贴方中延胡索能行血中气滞,故专治一身上下诸痛,味辛则气血能润能散,主要为活血行气止痛的功效;方中大黄主取活血逐瘀之功,延胡索与大黄配伍活血祛瘀、行气止痛,共为君药。熟地黄与菟丝子配伍以补益肝肾,当归起活血止痛之效,兼养血调经;川芎行气、又能活血,可行一身之气,为“血中之气药”,并具有祛风止痛之效,共为臣药。香附理气止痛,红花、姜黄、蒲黄行血祛瘀,乳香与没药两者配伍加强方中活血行瘀、消肿止痛之功,莪术破血行气,白芷散寒止痛,栀子清热利湿,共为佐药,可助君药活血祛瘀、行气止痛之功。冰片辛香,通诸窍经络,引诸药行于经脉,为使药。方中各药合用,共奏活血化瘀、行气消肿止痛、兼补益肝肾之功效,可标本兼治。现代药理研究中发现,延胡索及大黄主要成分有良好的抑制炎症因子表达、镇痛等效果^[23-25]。本

课题组在前期的临床研究发现超微肿痛贴在治疗膝骨关节病中可有效地改善临床症状,降低P物质、骨桥蛋白、IL-1 β 水平可能为其作用机制之一^[4-8]。传统散剂制作的外用膏剂的药材粒径大,因此溶出速率、溶出度及吸收率相对低,而超微肿痛贴运用的超微饮片将药材粒径缩小了几十至近百倍,一般微粉粒径控制在1~75 μm ,在保持传统中药固有的药理学成分的基础上,提取、浓缩等处理后增加了载药量、提高了透皮效果,并且增加了药物有效接触面积。

本次实验研究发现,超微肿痛贴组较模型组的软骨组织KOA样病变程度减轻,Mankin's评分降低($P<0.05$);并发现超微肿痛贴可减少兔KOA模型的关节液中TNF- α 水平、下调关节软骨中MMP-13蛋白表达、下调JNK及p38 MAPK信号通路表达($P<0.05$)。通过实验结果可以推断超微肿痛贴可能是通过减少TNF- α 释放,抑制MMP-13表达,下调JNK及p38 MAPK信号通路表达,进而保护关节软骨,这可能为其治疗KOA的作用机制之一,为超微肿痛贴防治KOA提供了部分实验依据。但超微肿痛贴组方药物较多,其有效成分及具体作用机制仍需进一步通过实验探索证实。

参考文献

- [1] 刘春红,吴斌.中医治疗膝骨关节炎的研究进展[J].风湿病与关节炎,2021,10(9):73-76.
- [2] 张意侗,谢秋芳,梁晖,等.膝骨性关节炎中医外治法的研究进展[J].中国医药导报,2019,16(26):45-48.
- [3] 刘平举,王俊.骨关节炎病理基础与早期治疗进展[J].世界最新医学信息文摘,2019,19(76):126-127.
- [4] 杨屈,吴官保,冯帅华.超微肿痛贴配合针刺膝五针治疗早期膝骨性关节炎30例[J].湖南中医杂志,2016,32(2):73-74.
- [5] 姚红艳,刘泽庚,吴官保.超微肿痛贴治疗膝骨性关节炎30例疗效观察[J].湖南中医杂志,2013,29(12):10-12.
- [6] 姚红艳,吴官保,蔡光先.超微肿痛贴治疗膝骨性关节炎疗效及其对关节液中IL-1 β 的影响[J].中国中医急症,2009,18(3):374,380.
- [7] 姚红艳.超微肿痛贴治疗膝骨性关节炎发作期的临床研究及其对关节液中P物质、IL-1 β 的影响[D].长沙:湖南中医药大学,2008.
- [8] 刘泽庚,姚红艳,吴官保,等.超微肿痛贴治疗膝骨性关节炎的疗效及其对血清OPN的影响[J].湖南中医药大学学报,2014,34(3):43-45.
- [9] 孙悦,冯帅华,杨屈,等.超微肿痛贴联合独活寄生汤治疗膝骨关节炎的疗效观察[J].湖南中医药大学学报,2021,41(3):453-456.
- [10] 韩冠英,凌沛学,王凤山,等.不同浓度木瓜蛋白酶建立兔膝骨关节炎模型比较研究[J].中国骨伤,2012,25(5):424-429.
- [11] VAN DER SLUIJS J A, GEESINK R G T, VAN DER LINDEN A J, et al. The reliability of the Mankin score for osteoarthritis[J]. Journal of Orthopaedic Research, 1992, 10(1): 58-61.
- [12] 张荣,张向东,赵明宇.膝骨关节炎发病机制及治疗进展[J].风湿病与关节炎,2019,8(5):68-72.
- [13] 汪国翔,章晓云.骨关节炎病变过程中炎症细胞因子及相关信号通路的作用机制[J].中国组织工程研究,2021,25(14):2266-2273.
- [14] 王迷娜,刘璐,赵洛鹏,等.膝骨关节炎炎症因子及信号通路的研究进展[J].中国骨伤,2020,33(4):388-392.
- [15] LONG D L, LOESER R F. p38gamma mitogen-activated protein kinase suppresses chondrocyte production of MMP-13 in response to catabolic stimulation[J]. Osteoarthritis and Cartilage, 2010, 18(9): 1203-1210.
- [16] XU L B, ZHAI L L, GE Q T, et al. Vacuolar protein sorting 4B (VPS4B) regulates apoptosis of chondrocytes via p38 mitogen-activated protein kinases (MAPK) in osteoarthritis[J]. Inflammation, 2017, 40(6): 1924-1932.
- [17] WANG J X, CHEN H J, CAO P, et al. Inflammatory cytokines induce caveolin-1/ β -catenin signalling in rat nucleus pulposus cell apoptosis through the p38 MAPK pathway[J]. Cell Proliferation, 2016, 49(3): 362-372.
- [18] PRASADAM I, FRIIS T, SHI W, et al. Osteoarthritic cartilage chondrocytes alter subchondral bone osteoblast differentiation via MAPK signalling pathway involving ERK1/2[J]. Bone, 2010, 46(1): 226-235.
- [19] 贺娟娟,颜春鲁,安方玉,等.炎症因子与炎症因子相关信号通路在膝骨关节炎中的调控机制研究进展[J].中国临床药理学杂志,2019,35(12):1308-1311.
- [20] SVENSSON C I, SCHÄFFERS M, JONES T L, et al. Spinal blockade of TNF blocks spinal nerve ligation-induced increases in spinal P-p38[J]. Neuroscience Letters, 2005, 379 (3): 209-213.
- [21] 谭旭仪,邝高艳,卢敏.从“虚、瘀、毒”论治膝骨关节炎的研究进展[J].中医药导报,2019,25(19):127-130.
- [22] 周新朋,林婷婷,金晔华,等.中医药古籍中治疗痹证用药规律分析[J].中医药导报,2019,25(14):55-59.
- [23] 李东辉,王临艳,吴红伟,等.大黄素药理作用研究新进展[J].中华中医药学刊,2021,39(9):100-104.
- [24] 田新玮,郑琦丽,王静,等.大黄素对类风湿关节炎模型大鼠的治疗作用及抗炎机制研究[J].江苏中医药,2020,52(10):84-87.
- [25] 张天龙,赵继荣,陈祁青,等.延胡索化学成分及镇痛作用机制研究进展[J].中国中医药信息杂志,2021,28(5):141-144.

(本文编辑 黎志清)