

· 针灸推拿 ·

本文引用: 史晓伟, 乌云额尔顿, 王东峰, 王彤, 王春久, 郭长青, 史术峰. 电针对早期膝骨关节炎兔模型关节软骨病理及黏弹性力学性能的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(1): 72-78.

电针对早期膝骨关节炎兔模型关节软骨病理及黏弹性力学性能的影响

史晓伟¹, 乌云额尔顿², 王东峰¹, 王彤², 王春久², 郭长青², 史术峰^{1*}

(1. 北京中医药大学第三附属医院推拿科, 北京 100029; 2. 北京中医药大学针灸推拿学院, 北京 100029)

〔摘要〕 目的 探索电针治疗对早期膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)兔模型关节软骨病理及黏弹性力学性能的影响。方法 33只新西兰兔按体重随机分为空白组(6只)及KOA造模组(27只), KOA造模组应用改良Videman法(过伸位制动)制动4周建立早期KOA兔模型, 拆除固定装置后根据Lequesne评分再随机分为模型组、电针组和西药组(每组9只), 均干预4周。干预结束后, 兔股骨内侧髁软骨分别进行番红O/固绿染色及黏弹性力学性能(纳米压痕仪)检测。结果 (1)与空白组相比, 模型组Mankin评分显著升高($P<0.01$); 干预治疗后与模型组相比, 电针组Mankin评分显著降低($P<0.01$), 西药组Mankin评分明显降低($P<0.05$)。 (2)与空白组相比, 模型组股骨软骨储存模量(storage modulus, SM)平均值显著升高($P<0.01$); 干预治疗后与模型组相比, 电针组、西药组股骨软骨SM平均值表达显著降低($P<0.01$)。 (3)与空白组相比, 模型组软骨损失模量(loss modulus, LM)平均值显著升高($P<0.01$); 干预治疗后与模型组相比, 电针组、西药组软骨平均LM值表达显著降低($P<0.01$)。 (4)与空白组相比, 模型组损失因子(loss factor, LF)表达升高; 干预治疗后与模型组相比, 电针组和西药组LF值表达升高, 但差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 电针干预早期KOA兔模型, 具有减轻关节软骨病理损伤、改善关节软骨SM和LM的作用。

〔关键词〕 膝骨关节炎; 关节软骨; 电针; 番红O/固绿染色; 纳米压痕

〔中图分类号〕 R245.9

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.01.013

Effects of Electroacupuncture on Articular Cartilage Pathology and Viscoelastic Mechanical Properties in a Rabbit Model of Early Knee Osteoarthritis

SHI Xiaowei¹, BATTULGA Oyunerdene², WANG Dongfeng¹, WANG Tong², WANG Chunjiu²,

GUO Changqing², SHI Shufeng^{1*}

(1. Department of Massage, The Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2. School of Acupuncture-Moxibustion and Tuina, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

〔Abstract〕 Objective To explore the effects of electroacupuncture on articular cartilage pathology and viscoelastic mechanical properties in a rabbit model of early knee osteoarthritis (KOA). **Methods** 33 New Zealand rabbits were randomly divided into the blank group (6 rabbits) and the KOA model group (27 rabbits) according to the body weight. In the KOA model group, the modified Videman method (hyperextension braking) was applied for 4 weeks to establish the early KOA rabbit model. After removing the

〔收稿日期〕 2020-08-22

〔基金项目〕 国家自然科学基金青年科学基金项目(81804184); 中国博士后科学基金一等资助项目(2018M640098)。

〔作者简介〕 史晓伟, 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 针刀理论与基础临床研究。

〔通讯作者〕* 史术峰, 男, 博士, 副主任医师, E-mail: drshishufeng88@sina.com。

fixed device, the KOA rabbits were randomly divided into the model group, the electroacupuncture group and the drug group (9 rabbits in each group). All groups were intervened for 4 weeks. After the intervention, the cartilage of medial femoral condyle was stained with safranin O/fast green and its viscoelastic properties were detected (nanoindentation instrument). **Results** (1) Compared with the blank group, the Mankin score of the model group was significantly increased ($P<0.01$); after intervention, compared with the model group, the Mankin score in the electroacupuncture group ($P<0.01$) and drug group ($P<0.05$) were significantly lower. (2) Compared with the blank group, the average storage modulus (SM) of femoral cartilage in the model group was significantly increased ($P<0.01$); after intervention, compared with the model group, the average SM of femoral cartilage in the electroacupuncture group and drug group were significantly lower ($P<0.01$). (3) Compared with the blank group, the expression of average loss modulus (LM) of cartilage was significantly increased ($P<0.01$); after intervention, compared with the model group, the expression of average LM of femoral cartilage in the electroacupuncture group and drug group were significantly lower ($P<0.01$). (4) Compared with the blank group, the expression of loss factor (LF) of the model group was increased; after intervention, compared with the model group, the expression of LF in the electroacupuncture group and drug group were increased, but the difference was not statistically significant ($P>0.05$). **Conclusion** Electroacupuncture could reduce the pathological damage of articular cartilage and improve the SM and LM of articular cartilage in a rabbit model of early KOA.

[**Keywords**] knee osteoarthritis; articular cartilage; electroacupuncture; safranin O/fast green staining; nanoindentation

膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是一种临床常见的慢性关节退行性疾病,主要临床表现为膝关节疼痛及功能活动障碍等,其典型病理改变为膝关节软骨退变以及病情进行性加重^[1]。导致 KOA 的高危因素众多,比如年龄、性别、职业等,其中膝关节承受异常的生物力是致病的重要原因^[2]。在膝关节的稳定中,肌肉发挥动态保护作用,肌肉功能异常如肌萎缩、肌无力等会加速 KOA 进展^[3]。既往研究证实,KOA 患者多存在膝关节周围肌肉萎缩或肌力降低的临床表现,如股四头肌、腘绳肌功能减退^[4]。因此,通过改善膝周肌肉功能、调整膝关节异常的生物力学环境,可能是缓解 KOA 关节软骨退变的良好策略。中医诊疗专家共识(2015 年版)推荐针灸治疗 KOA^[5],但其对膝关节软骨是否具有保护作用有待研究。因此,本研究探索电针对早期 KOA 兔膝关节软骨病理及黏弹性力学性能的影响,进一步为电针、针刀治疗 KOA 提供动物实验研究支持。

1 材料与方法

1.1 实验动物

33 只健康清洁级新西兰雄兔(6 月龄,体质量 2.5~3.0 kg)购买并饲养于北京金牧阳实验动物有限公司(动物生产许可证号:SCXK 2015-0005,动物使

用许可证号:SYXK 2015-0008),所有实验动物单笼饲养[温度(22±2)℃,相对湿度 45%±5%]并自由获取食物和水。本实验研究获得北京中医药大学动物伦理委员会批准,实验过程严格按照实验动物管理规定进行。

1.2 KOA 兔模型制备

KOA 兔模型的原理为下肢过伸位固定制动法(改良 Videman 法),详细造模方法参照本团队前期研究^[6-7],简要步骤包括:(1)兔左后肢伸直,医用压敏胶带(0.9 cm 宽;海氏海诺,青岛海诺生物工程有限公司)缠绕左后肢;(2)泡沫双面胶(10 mm 厚;上海得力文具有限公司)覆盖压敏胶带,范围从腹股沟至膝盖;(3)树脂绷带(150×1 800 mm;揭西县泰洲医疗有限公司)沿泡沫胶范围缠绕 1 周;(4)高分子固定绷带(KNT04;可耐特,苏州可耐特医疗科技有限公司)缠绕树脂绷带 1 周;(5)树脂绷带再固定、并亚敏胶带捆绑。这样就形成一个类似“石膏”样的固定结构,连续制动 4 周。

1.3 实验分组及干预方法

33 只新西兰兔依据体质量,查随机数字表,随机分为空白组(6 只)和造模组(27 只)。空白组正常饲养,KOA 造模组根据“1.2”方法进行动物模型制备。KOA 兔制动 4 周后,拆除固定装置,适应性饲养

3 d, 根据 Lequesne MG 评分^[6]再随机分为模型组、电针组和西药组(每组 9 只)。干预方法:(1)空白组和模型组: 每日正常抓取, 同时给予纯水 3 mL 灌胃, 每日 1 次;(2)电针组: 穴位选择梁丘、血海、内膝眼、外膝眼、阴陵泉、阳陵泉、委中、曲泉(取穴参照《实验针灸学》^[9]), 一次性无菌针灸针(0.2 mm×13 mm, 环球牌)刺入, 分别连接梁丘-委中, 血海-曲泉进行电刺激(LH202H, 韩牌电针仪; 波形疏密波, 频率 2/100 Hz, 强度 2 mA), 每次 20 min, 隔天干预 1 次;(3)西药组: 给予塞来昔布(批号: 国药准字 J20120063; 西乐葆, 0.2 g/片, 辉瑞制药有限公司)灌胃治疗(溶于纯水, 10 mg/kg), 每日 1 次。均干预治疗 4 周。

1.4 兔股骨内侧髌软骨番红 O/固绿染色

干预结束后, 应用空气栓塞法处死兔。快速钳取兔股骨内侧髌软骨, 4%多聚甲醛固定 72 h 后, 浸入 15%乙二胺四乙酸溶液中脱钙 2 周。然后进行常规脱水、透明并石蜡包埋、切片等操作(软骨切片厚度 4 μm)。软骨玻片进行番红 O/固绿染色, 简要步骤如下:(1)软骨玻片在烤片机上 65 °C 烤片 1 h;(2)常规二甲苯脱蜡, 梯度酒精水化后, 浸入 1%番红 O 染液中 30 min, 然后浸入 50%、70%、80%酒精中各 1 min;(3)玻片浸入 0.5%固绿染液 1 min, 然后 100%酒精 I、II、III 各 10 s;(4)玻片按常规透明, 中性树胶封片。染色完成的软骨玻片应用全自动病理扫描机(Vectra Polaris, 美国 PerkinElmer 公司)进行扫描, 得到的病理图片根据 Mankin 评分^[10]进行评分(轻度: 1~4 分; 中度: 5~9 分; 重度: 10~13 分), 结果进行统计学分析。

1.5 兔股骨内侧髌软骨黏弹性力学性能检测

关节软骨黏弹性力学性能检测应用纳米压痕仪(Nano Indenter G200, 美国 Keysight 公司)来完成。(1)试样杯的制作简要流程^[7]: 兔股骨截成长度(15±2) mm, 清除关节多余组织, 用浸润生理盐水的纱布包裹保湿; 将搅拌均匀的树脂倒入试样杯[根据中国发明专利技术(CN201310477058.0)^[11]标准进行制作; 铝试样杯: 高 20 mm, 外直径为 31 mm, 内直径为 25 mm, 孔高 17 mm]至半杯左右, 待树脂黏稠难于搅动时, 将股骨垂直插入树脂, 软骨面朝上并保证被测软骨区域与试样杯口等高; 加入生理盐水至距

离杯口约 1 mm 处, 待测软骨区域用湿润纱布(生理盐水)覆盖; 将制备完成的试样杯置于通风厨中等待树脂完全固化。试样杯制备完成后装入纳米压痕仪卡台中完成测试。(2)纳米压痕实验简要步骤^[7]: 试样杯固定于压痕仪卡台后, 通过放大光学显微镜(250 倍)确定需要压入的软骨位置(股骨内侧髌); 输入相关实验参数: 预压深度 10 μm, 材料泊松比 0.48, 振动频率为 1~45 Hz, 加载频率数量 5 个, 压头直径 70 μm, 仪器自动完成测试。试验中, 机器判断真实表面高度后, 压头在被测区域位置预压入 10 μm, 当漂移稳定、连续刚度测量组件稳定后, 进行后续测量, 得到 5 个频率下(加载频率分别为 1、2.59、6.708、17.374、45 Hz)各自的阻尼系数和接触刚度。将得出的储存模量、损失模量及阻尼系数等数据进行统计学分析。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析, 计量资料采用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。所有数据先进行 Kolmogorov-Smirnov 正态性检验、Levene's test 方差齐性检验。符合正态分布及方差齐的数据资料采用单因素方差分析(one-way, ANOVA), 各组间分析采用 LSD 中 Dunnett's post hoc 检验; 不符合正态检验或方差不齐的数据, 采用 Kruskal-Wallis 非参数秩和检验。均以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组兔膝关节软骨番红 O/固绿染色结果比较

空白组可见软骨层均质红染, 软骨 4 层结构清晰, 软骨层与软骨下骨之间潮线清晰完整; 模型组软骨层淡染, 软骨 4 层结构分辨不清, 潮线模糊, 软骨层厚度变薄; 电针组及西药组软骨层结构紊乱, 软骨细胞不同程度增生, 潮线层次不清或正常, 软骨层厚度变薄。对软骨染色结果进行 Mankin 组织学评分定量分析后, 与空白组相比, 模型组 Mankin 评分显著升高($P < 0.01$); 干预治疗后与模型组相比, 电针组 Mankin 评分显著降低($P < 0.01$), 西药组 Mankin 评分明显降低($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

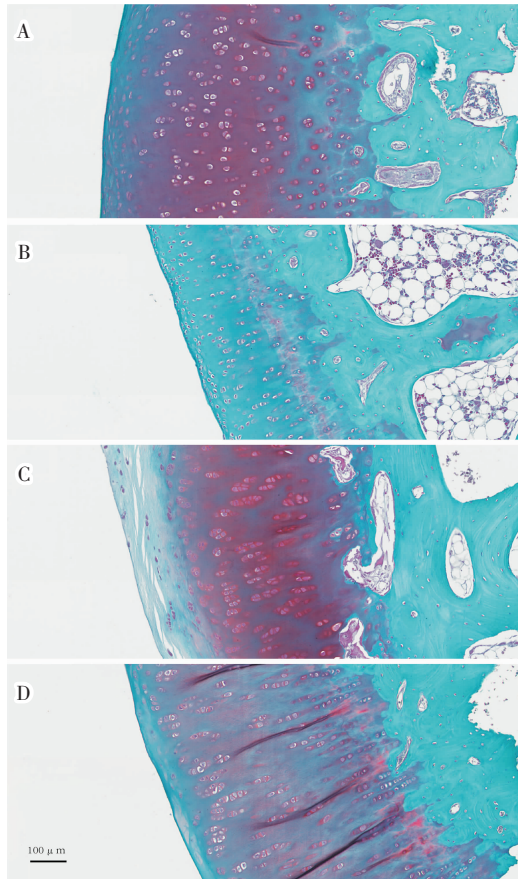
2.2 各组兔膝关节股骨软骨纳米压痕结果比较

2.2.1 各组兔膝关节股骨软骨储存模量结果比较 从

表 1 各组兔膝关节软骨 Mankin 评分结果比较 ($\bar{x}\pm s$, 分)

组别	n	Mankin 评分
空白组	6	0±0
模型组	6	5.12±1.65 ^{##}
电针组	6	3.67±1.40 ^{**}
西药组	6	3.93±1.44 [*]

注:与空白组比较, ^{##} $P<0.01$;与模型组比较, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$



注:红色代表软骨组织,绿色代表纤维、骨组织;A-D 依次为空白组、模型组、电针组、西药组

图 1 各组兔膝关节软骨番红 O/固绿染色图

各频率均值看,兔膝关节股骨软骨在 5 个频率下 SM 值随着频率增高而逐渐升高。与空白组相比,模型组股骨软骨 SM 值表达显著升高($P<0.01$);干预治疗后与模型组相比,电针组、西药组股骨软骨 SM 值显著降低($P<0.01$)。从平均值看,模型组股骨 SM 值与空白组相比显著升高($P<0.01$);干预治疗后与模型组相比,电针组、西药组股骨 SM 值显著降低($P<0.01$)。见表 2。

2.2.2 各组兔膝关节股骨软骨损失模量结果比较 从各频率均值看,兔膝关节股骨软骨在 5 个频率下的损失模量 LM 值随着频率的增高先降低再逐渐升高。与空白组相比,模型组股骨软骨 LM 值显著升高($P<0.01$);干预治疗后与模型组相比,电针组、西药组股骨软骨 LM 值显著降低($P<0.01$)。从平均值看,模型组股骨 LM 值与空白组相比显著升高($P<0.01$);干预治疗后与模型组相比,电针组、西药组股骨 LM 值显著降低($P<0.01$)。见表 3。

2.2.3 各组兔膝关节股骨软骨损失因子结果比较 与空白组相比,模型组兔股骨软骨 LF 值在 1、2.59、6.708 Hz 时表达升高,在 17.374、45 Hz 时,模型组股骨软骨 LF 值表达降低,但差异均无统计学意义($P>0.05$);干预治疗后与模型组相比,电针组和西药组股骨软骨 LF 值表达均有升高趋势,但整体差异无统计学意义($P>0.05$)。从平均值看,模型组胫骨 LF 值与空白组相比表达升高,但差异无统计学意义($P>0.05$);干预治疗后与模型组相比,电针组、西药

表 2 各组兔股骨软骨不同频率 SM 值比较 ($n=3, \bar{x}\pm s$, Pa)

组别	1 Hz	2.59 Hz	6.708 Hz	17.374 Hz	45 Hz	平均值
空白组	3.65±1.37	3.88±1.31	4.18±1.28	4.55±1.32	4.89±1.38	4.23±1.33
模型组	11.88±3.11 ^{##}	12.26±3.39 ^{##}	13.05±3.66 ^{##}	14.05±3.91 ^{##}	15.13±3.98 ^{##}	13.27±3.61 ^{##}
电针组	5.39±0.62 ^{**}	5.66±0.65 ^{**}	6.09±0.69 ^{**}	6.68±0.81 ^{**}	7.23±0.93 ^{**}	6.21±0.74 ^{**}
西药组	4.70±2.46 ^{**}	5.30±3.16 ^{**}	5.78±3.44 ^{**}	6.26±3.66 ^{**}	6.83±3.97 ^{**}	5.78±3.34 ^{**}

注:与空白组比较, ^{##} $P<0.01$;与模型组比较, ^{**} $P<0.01$

表 3 各组兔股骨软骨不同频率 LM 值比较 ($n=3, \bar{x}\pm s$, Pa)

组别	1 Hz	2.59 Hz	6.708 Hz	17.374 Hz	45 Hz	平均值
空白组	0.63±0.19	0.62±0.17	0.63±0.15	0.71±0.14	0.79±0.17	0.68±0.16
模型组	2.33±0.67 ^{##}	2.06±0.45 ^{##}	1.99±0.36 ^{##}	2.07±0.26 ^{##}	2.31±0.26 ^{##}	2.15±0.39 ^{##}
电针组	1.04±0.13 ^{**}	0.99±0.15 ^{**}	1.03±0.18 ^{**}	1.13±0.19 ^{**}	1.31±0.25 ^{**}	1.10±0.18 ^{**}
西药组	0.94±0.56 ^{**}	0.88±0.48 ^{**}	0.92±0.45 ^{**}	1.01±0.48 ^{**}	1.11±0.54 ^{**}	0.97±0.50 ^{**}

注:与空白组比较, ^{##} $P<0.01$;与模型组比较, ^{**} $P<0.01$

组胫骨 LF 值表达升高,但差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 4。

3 讨论

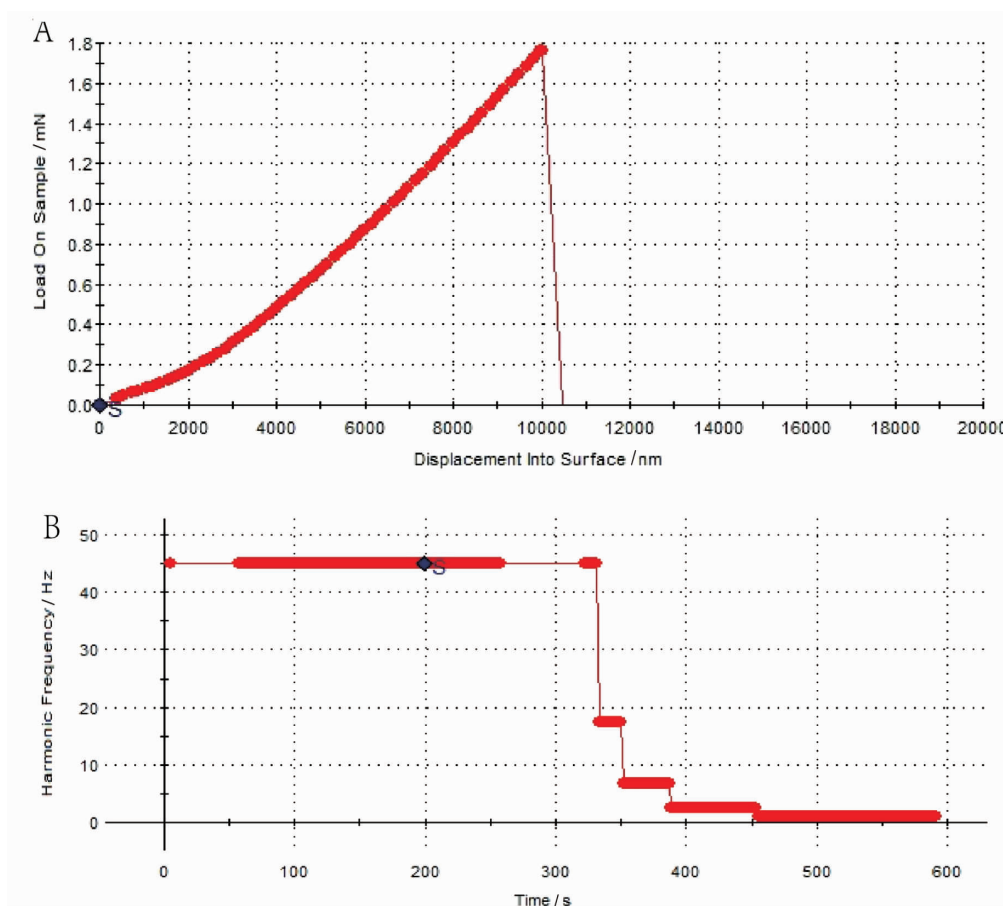
骨关节炎是骨骼肌肉系统中最常见的疾病,而各关节中最易受累的是膝关节^[12]。导致 KOA 的高危因素众多,包括中老年人、女性、肥胖、创伤以及过度使用关节的职业等^[13],深入分析可以发现一个共同的内在因素——膝关节异常的生物力学环境:老年人及女性多存在膝周肌肉萎缩、肌肉无力等力学改变,肥胖患者膝关节长期承受过度的压力负荷,关节过度使用的工种极大增加了膝关节的过度负荷。因此,

有学者认为 KOA 是一种炎症和生物力学共同作用导致的全关节疾病^[2],突出强调了生物力学在 KOA 致病的关键作用。在膝关节稳定的维持中,肌肉发挥动力性作用,既往研究证实了 KOA 患者多存在肌无力(如股四头肌、腓绳肌^[3])的表现,且肌无力也会加速 KOA 疾病进展^[4]。同时,研究还发现膝关节应力不足或过高均会导致软骨组织退变破坏,而适度的力学环境促进软骨细胞增殖及细胞外基质的合成^[15]。因此,通过干预膝周肌肉组织,改善其萎缩状态,调节关节软骨异常生物力学环境是一种良好的治疗策略。

关节软骨微观结构中,软骨细胞镶嵌于细胞外

表 4 各组兔股骨软骨不同频率 LF 值比较($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	1 Hz	2.59 Hz	6.708 Hz	17.374 Hz	45 Hz	平均值
空白组	0.177±0.014	0.162±0.013	0.154±0.014	0.159±0.016	0.164±0.014	0.163±0.014
模型组	0.195±0.014	0.170±0.009	0.155±0.014	0.152±0.024	0.156±0.024	0.166±0.013
电针组	0.193±0.005	0.174±0.009	0.168±0.014	0.168±0.012	0.181±0.017	0.176±0.011
西药组	0.195±0.013	0.171±0.013	0.167±0.023	0.168±0.023	0.168±0.018	0.174±0.013



注: A.加载过程图:探头在软骨表面进行预压 10 μm ,曲线均衡说明没有位置漂移;B.载荷-频率-时间曲线图:纳米压痕仪分别在 1、2.59、6.708、17.374、45 Hz 不同频率下对软骨进行自动检测

图 2 各组兔膝关节股骨软骨纳米压痕示意图

基质(extracellular matrix, ECM)组成的网状结构中,ECM对软骨细胞发挥支撑和保护作用,软骨细胞、ECM共同构成了软骨典型的4层结构,番红O/固绿染色可以很好的区分软骨和骨组织。本研究结果发现KOA兔制动4周后,模型组股骨内侧髁软骨组织Mankin病理评分与空白组相比显著升高,达到轻、中度损伤程度。Ryuji Okazaki等^[16]同样应用制动法建立KOA兔模型,制动发现1~2周关节软骨即出现早期退变,4周后中度退变,6周后严重退变,与我们的结果相似。干预治疗后,电针组Mankin评分与模型组相比显著降低,提示电针干预早期KOA兔模型对关节软骨损伤具有保护作用。

软骨组织具有独特的力学性能,即黏弹性。这其中发挥力学作用的主要是软骨ECM构成的独特网状结构,ECM主要由水、胶原蛋白、蛋白多糖等构成,其中最重要的结构是胶原蛋白,尤其是II型胶原^[17]。KOA的典型病理改变是软骨细胞丢失及ECM的降解,ECM降解破坏是因,软骨细胞失去支撑环境导致减少是果,并导致恶性循环。软骨成分结构的改变,必然导致其生物力学性能的变化。本研究对关节软骨进行纳米压痕仪检测,相关指标主要为SM和LM。其中,SM又称“杨氏模量”,反映了材料储存弹性反冲能量的能力^[18];SM值越大,材料的刚度越大。

LM代表材料的能量耗损能力,是从能量损失角度来反映弹性模量^[18]。SM/LM得出的值为损失因子(loss factor, LF),综合反映材料的黏弹性能。本研究结果发现,SM值随着频率的增加而升高,这一表达趋势与Lawless等^[19]研究结果相似;而LM值、LF值随着频率的增加先降低再升高。整体数据来看:与空白组相比,模型组SM值、LM值显著升高,提示股骨内侧髁软骨刚性显著升高,意味着软骨组织变硬;干预治疗后与模型组相比,电针组和西药组SM值、LM值显著降低,说明电针、西药可显著改善股骨软骨刚性;与空白组相比,模型组LF值表达升高,干预治疗后与模型组相比,电针组和西药组LF值表达升高,虽然差异均无统计学意义,但从一定角度反映了关节软骨综合黏弹性能的改变,有必要未来深入研究。Guilak等^[20]研究发现,在犬早期骨关节炎(前交叉韧带切断)中关节软骨抗拉刚度与正常

软骨相比降低,提示软骨结构发生改变,同时进一步明确KOA软骨胶原蛋白(减少36%)和蛋白多糖(减少37%)明显减少,从另一角度解释了KOA软骨的微观变化。

电针是传统针刺与电刺激结合的针刺方式,因为其定量和可重复性,国内外应用广泛。既往研究证实了电针对KOA的良好治疗效果,具体机制包括抗炎、改善血液循环、镇痛等^[21-22]。在临床生物力学研究中,刚嘉鸿等^[23]发现电针具有改善KOA患者股直肌肌张力的作用,同时韩超等^[24]发现电针还可以改善KOA患者的步态功能。KOA属于中医学“痹症”范畴。中医学认为,KOA是一种筋骨病变(筋骨力学失衡),通过治筋或筋骨同治可以恢复膝关节的力学平衡,达到治疗作用。KOA治疗中的临床常用腧穴中,比如血海、梁丘、阴陵泉、阳陵泉等均位于膝周肌肉上或肌肉附近,通过对肌肉功能的直接作用,发挥“调筋正筋”达到“治骨”的目的。同时,电针除发挥直接改善肌肉功能外,研究发现电针具有复杂的中枢镇痛机制^[25],可能对关节软骨直接发挥抗炎作用^[26],通过一系列的综合作用而达到治疗疼痛、缓解KOA软骨降解的作用。我们团队前期研究证实电针具有改善KOA兔模型股直肌、股二头肌萎缩状态的作用,本研究进一步证实了电针对兔KOA模型关节软骨具有一定的保护作用。

总之,电针干预早期KOA兔模型,具有减轻关节软骨病理损伤及改善关节软骨SM和LM的作用。

参考文献

- [1] MA V Y, CHAN L, CARRUTHERS K J. Incidence, prevalence, costs, and impact on disability of common conditions requiring rehabilitation in the United States: Stroke, spinal cord injury, traumatic brain injury, multiple sclerosis, osteoarthritis, rheumatoid arthritis, limb loss, and back pain[J]. Archives of Physical Medicine and Rehabilitation, 2014, 95(5): 986-995.
- [2] MOBASHERI A, BAY-JENSEN A C, VAN SPIL W E, et al. Osteoarthritis Year in Review 2016: Biomarkers (biochemical markers)[J]. Osteoarthritis and Cartilage, 2017, 25 (2): 199-208.
- [3] CULVENOR A G, RUHDORFER A, JUHL C, et al. Knee extensor strength and risk of structural, symptomatic, and func-

- tional decline in knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis[J]. *Arthritis Care & Research*, 2017, 69(5): 649-658.
- [4] FRANSEN M, CROSBIE J, EDMONDS J. Isometric muscle force measurement for clinicians treating patients with osteoarthritis of the knee[J]. *Arthritis and Rheumatism*, 2003, 49(1): 29-35.
- [5] 陈卫衡,刘献祥,童培建,等.膝关节炎中医诊疗专家共识(2015年版)[J].*中医正骨*,2015,27(7):4-5.
- [6] 乌云额尔敦,郭长青,王彤,等.针刀干预对中期膝关节炎兔模型伸肌-屈肌萎缩状态及肌肉拉伸弹性模量的影响[J].*湖南中医药大学学报*,2019,39(10):1248-1253.
- [7] SHI X W, YU W J, WANG T, et al. Electroacupuncture alleviates cartilage degradation: Improvement in cartilage biomechanics via pain relief and potentiation of muscle function in a rabbit model of knee osteoarthritis [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapie*, 2020, 123: 109724.
- [8] LEQUESNE M G, SAMSON M. Indices of severity in osteoarthritis for weight bearing joints[J]. *The Journal of Rheumatology. Supplement*, 1991, 27: 16-18.
- [9] 李忠仁.实验针灸学[M].北京:中国中医药出版社,2007.
- [10] 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.
- [11] 北京工业大学.一种关节软骨微结构纳米压痕镶嵌保水试样台及实验方法:中国,201310477058.0[P].2013-10-14.
- [12] 王波,余楠生.膝关节炎阶梯治疗专家共识(2018年版)[J].*中华关节外科杂志(电子版)*,2019,13(01):124-130.
- [13] SILVERWOOD V, BLAGOJEVIC-BUCKNALL M, JINKS C, et al. Current evidence on risk factors for knee osteoarthritis in older adults: A systematic review and meta-analysis [J]. *Osteoarthritis and Cartilage*, 2015, 23(4): 507-515.
- [14] BENNELL K, HINMAN R S, WRIGLEY T V, et al. Exercise and osteoarthritis: Cause and effects[J]. *Comprehensive Physiology*, 2011, 1(4): 1943-2008.
- [15] DIAO H J, FUNG H S, YEUNG P, et al. Dynamic cyclic compression modulates the chondrogenic phenotype in human chondrocytes from late stage osteoarthritis [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 486(1): 14-21.
- [16] OKAZAKI R, SAKAI A, OOTSUYAMA A, et al. Apoptosis and p53 expression in chondrocytes relate to degeneration in articular cartilage of immobilized knee joints[J]. *The Journal of Rheumatology*, 2003, 30(3): 559-566.
- [17] AKKIRAJU H, NOHE A. Role of chondrocytes in cartilage formation, progression of osteoarthritis and cartilage regeneration[J]. *Journal of Developmental Biology*, 2015, 3(4): 177-192.
- [18] MENARD K. Dynamic mechanical analysis:a practical introduction[M]. Boca Raton: CRC Press, 2008.
- [19] LAWLESS B M, SADEGHI H, TEMPLE D K, et al. Viscoelasticity of articular cartilage: Analysing the effect of induced stress and the restraint of bone in a dynamic environment[J]. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2017, 75: 293-301.
- [20] GUILAK F, RATCLIFFE A, LANE N, et al. Mechanical and biochemical changes in the superficial zone of articular cartilage in canine experimental osteoarthritis [J]. *Journal of Orthopaedic Research*, 1994, 12(4): 474-484.
- [21] AHSIN S, SALEEM S, BHATTI A M, et al. Clinical and endocrinological changes after electro-acupuncture treatment in patients with osteoarthritis of the knee[J]. *Pain*, 2009, 147(1/2/3): 60-66.
- [22] ZHANG R X, LAO L X, REN K, et al. Mechanisms of acupuncture-electroacupuncture on persistent pain[J]. *Anesthesiology*, 2014, 120(2): 482-503.
- [23] 刚嘉鸿,宓轶群,王华敏.电针与美洛昔康治疗早中期膝关节炎临床疗效比较:随机对照研究[J].*中国针灸*,2016,36(5):467-470.
- [24] 韩超,孙忠人.电针治疗膝关节炎的步态特征研究[J].*吉林中医药*,2018,38(2):217-219.
- [25] CHEN N, WANG J, MUCELLI A, et al. Electro-acupuncture is beneficial for knee osteoarthritis: The evidence from meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2017, 45(5): 965-985.
- [26] CHEN H H, SHAO X, LI L, et al. Electroacupuncture serum inhibits TNF- α -mediated chondrocyte inflammation via the Ras-Raf-MEK1/2-ERK1/2 signaling pathway [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2017, 16(5): 5807-5814.