

• 实验研究 •

多巴胺对骨关节炎的治疗作用及相关分子机制研究

冷明昊¹ 毛慧敏² 舒莉^{3△}

[摘要] **目的:**探讨多巴胺(DA)对骨关节炎的治疗作用及相关分子机制。**方法:**SPF 级别雄性 SD 大鼠 60 只,随机分为模型组、多巴胺 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组、多巴胺 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组、多巴胺 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组、假手术组、阳性对照组。采用右膝关节前韧带交叉切断术建立骨关节炎(OA)大鼠模型,检测大鼠的机械性痛阈值和膝关节直径;采用 ELISA 法检测大鼠外周血液中白细胞介素(IL)-1 β , IL-6 和肿瘤坏死因子(TNF)- α 含量;采用 RT-PCR 法检测大鼠关节组织中 IL-1 β , IL-6, TNF- α , 金属基质蛋白酶(MMP)-3, MMP-9 和 MMP-13 mRNA 表达水平;采用 HE 染色和番红固绿染色检测大鼠关节组织的病理学变化;采用 Western Blot 法检测大鼠关节组织中 MMP-3, MMP-9, MMP-13, Akt, p-Akt, p-I κ -B α , I κ -B α , p-p65 和 p65 蛋白表达水平。**结果:**多巴胺显著增加 OA 大鼠的机械性痛阈值,并减小 OA 大鼠的膝关节直径,差异有统计学意义($P < 0.05$);同时下调 OA 大鼠外周血液中 IL-1 β , IL-6 及 TNF- α 的表达水平,差异有统计学意义($P < 0.05$);多巴胺显著下调 OA 大鼠关节组织中 IL-1 β , IL-6, TNF- α , MMP-3, MMP-9 及 MMP-13 mRNA 表达水平,并缓解 OA 大鼠关节组织中炎性细胞浸润和软骨基质降解,差异有统计学意义($P < 0.05$);除此之外,多巴胺显著下调 OA 大鼠关节组织中 MMP-3, MMP-9, MMP-13, p-Akt/Akt, p-I κ -B α /I κ -B α 及 p-p65/p65 蛋白表达水平,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**多巴胺对骨关节炎治疗具有潜在的价值,且这种作用可能与抑制 Akt/NF- κ b 信号通路活化有关。

[关键词] 多巴胺;骨关节炎;分子机制

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2020)09-0016-07

Study on Efficacy of Dopamine for Osteoarthritis and Molecular Mechanism

LENG Minghao¹ MAO Huimin² SHU Li^{3△}

¹Department of Orthopaedics, Suizhou Central Hospital, Suizhou 441300, Hubei China;

²Department of Nuclear Medicine, Suizhou Central Hospital, Suizhou 441300, Hubei China;

³Department of Orthopaedics, the Sixth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China.

Abstract Objective: To investigate the effect of dopamine(DA) on the treatment of osteoarthritis and related molecular mechanisms. **Methods:** 60 SPF male SD rats were established with osteoarthritis(OA) rat model by right anterior ligament cross-section measure, and the mechanical pain threshold and knee diameter of the rats were measured. Interleukin IL-1 β , IL-6 and tumor necrosis factor TNF- α in peripheral blood of rats were detected by ELISA. RT-PCR was used to detect the expression of IL-1 β , IL-6, TNF- α , metal matrix proteinase MMP-3, MMP-9 and MMP-13 mRNA in rat joint. Pathological changes in joint tissues of rats were detected by HE and Safranin O staining. Western blot was used to detect MMP-3, MMP-9, MMP-13, Akt, p-Akt, p-I κ -B α , I κ -B α , p-p65 and p65 protein expression levels in rat joint tissues. **Results:** Dopamine significantly increased the threshold of mechanical pain in OA rats and reduced the knee joint diameter of OA rats($P < 0.05$). It down-regulated the expression levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α in peripheral blood of OA rats($P < 0.05$). Dopamine significantly down-regulated the mRNA expression

levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α , MMP-3, MMP-9, MMP-13 in joint tissues of OA rats, and relieved inflammatory cell infiltration and cartilage matrix degradation in the joint tissues of OA rats ($P < 0.05$). In addition, Dopamine significantly down-regulated MMP-3, MMP-9, MMP-13, p-Akt/Akt, p-I κ -

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2019D01C162)

¹ 湖北随州市中心医院骨科(湖北 随州, 441300)

² 随州市中心医院核医学科

³ 新疆医科大学第六附属医院骨科

[△]通信作者 E-mail: huwentingsj@163.com

Ba/1 κ -Ba, p-p65/p65 protein expression levels ($P < 0.05$). **Conclusion:** Dopamine has potential value for the treatment of osteoarthritis, and this effect may be related to the inhibition of Akt/NF- κ B signaling pathway activation.

Keywords: dopamine; osteoarthritis; molecular mechanism

骨关节炎(Osteoarthritis, OA)是常见的关节疾病之一,其特点是关节疼痛和活动受限,严重者能够引起残疾^[1-4]。骨关节炎的发病机制不太清晰,但炎症反应、机械损伤与骨关节炎的发病机制密切相关^[5-8]。多巴胺是一种神经递质,抑制脂多糖诱导的炎症因子包括 IL-1 β , IL-6 及 TNF- α 产生和炎性小体激活引起的系统性炎症反应^[9-11]。但多巴胺对于骨关节炎的治疗作用及机制不太清晰,因此本研究采用骨关节炎大鼠模型评价多巴胺的抗骨关节炎作用及相关分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级别 6 月龄 SD 大鼠 60 只,体质量 220~250 g,购买于新疆医科大学动物实验中心,动物许可证号 SCXK(新)-20190023

1.2 实验药物与试剂

多巴胺盐酸盐(H8502)购买于 Sigma 公司(美国);Anti-MMP-3(14351),Anti-MMP-9(13667),Anti-MMP-13(69926),Anti-GAPDH(5174),Anti-NF κ B p65(8242),Anti-p-p65(3033),Anti-Akt(4685),Anti-p-Akt(4060)购自 Cell Signaling 生物公司(美国);RIPA蛋白裂解液(P0013C),蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(P1046)购买于碧云天生物科技有限公司(中国)。

1.3 实验仪器

微孔板酶标仪 Varioskan™ LUX(赛默飞,美国);NanoDrop 2000 Spectrophotometer(赛默飞,美国);StepOnePlus™ Real-Time PCR(赛默飞,美国);SDS-PAGE 电泳设备及转膜仪(Bio-Rad 公司,美国)。

1.4 方法

1.4.1 骨关节炎动物模型 采用右膝关节前交叉韧带切断术建立骨关节炎大鼠模型,将 SD 大鼠正常喂养 1 周以后,禁食 12 h,戊巴比妥钠(50 mg/kg)腹腔注射麻醉,固定于实验操作台,右膝关节刮去皮毛,碘伏消毒,在无菌情况下,于膝关节内侧切约 1 cm 纵向切口,打开关节腔,同时切断前交叉韧带、内侧副韧带和内侧半月板,缝合伤口,术后连续肌肉注射 4 d 抗生素,假手术组大鼠在没有其他任何处理情况下缝合伤口,记手术当天为第 0 天。

1.4.2 干预方法 手术后 2 周,根据膝关节直径和机械性痛阈值结果将造模成功的大鼠随机分为模型组,多巴胺 5 μ g/kg,多巴胺 10 μ g/kg,多巴胺 15 μ g/kg

和阳性对照组(双氯芬酸钠,4 mg/kg),采用局部膝关节腔注射,1 次/d,连续给药 5 周,最后 1 次给完药,检测膝关节直径和机械性痛阈值,然后腹主动脉取血,脱颈椎处死,分离膝关节组织,进行后续实验。

1.4.3 ELISA 法 收集实验大鼠血液,分离血清,使用商用 ELISA 试剂盒根据制造商说明书检测大鼠血液中 TNF- α , IL-6 和 IL-1 β 的含量。

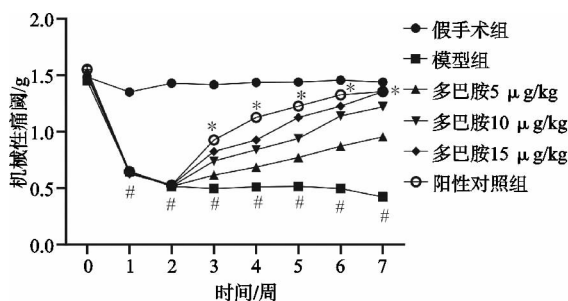
1.4.4 RT-PCR 法 分离和收集实验大鼠的膝关节组织,称取约 30 mg,加入 1 mL Trizol 裂解液,组织研磨仪匀浆,提取组织总 RNA,用 NanoDrop 2000 Spectrophotometer 检测 RNA 的浓度和纯度,用 PrimeScript™ RT 试剂盒和 gDNA Eraser(宝日医生物技术有限公司,日本)将 RNA(1 μ g)逆转录为 cDNA,使用配有 SYBRs Green Master Mix(诺唯赞,中国)的 CFX Connect™ Real-Time 系统(BioRad,美国)进行 qRT-PCR 定量分析,扩增条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;95 $^{\circ}$ C 变性 15 s,60 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,重复 40 个循环,最后根据 2^{- $\Delta\Delta$ C_t}法计算 MMP-3, MMP-9, MMP-13, GAPDH mRNA 的表达水平。引物序列如下:

IL-6-Forward,
5'-CACCCTGCCCCGTAGATGAAG-3';
IL-6-Reverse,
5'-AGGGTACAGTCGTCGAACTCT-3';
IL-1 β -Forward,
5'-TGAGCCAAGACAGAAAACCCA-3';
IL-1 β -Reverse,
5'-GGGACATGAGTAAGGTTCTGTT-3';
TNF- α -Forward,
5'-TTGCTCTTATGGATTGTCCCC-3';
TNF- α -Reverse,
5'-CATTGATGCAGCACAGTTGTC-3';
MMP-3-Forward,
5'-AGTCTTCCAATCCTACTGTTGCT-3';
MMP-3-Reverse,
5'-TCCCCGTCACCTCCAATCC-3';
MMP-9-Forward,
5'-TGTACCGCTATGGTTACACTCG-3';
MMP-9-Reverse,
5'-GGCAGGGACAGTTGCTTCT-3';
MMP-13-Forward,
5'-ACTGAGAGGCTCCGAGAAATG-3';

MMP-13-Reverse,
 5'-GAACCCCGCATCTTGGCTT-3';
 GAPDH-Forward,
 5'-TGTGGGCATCAATGGATTTGG-3';
 GAPDH-Reverse,
 ACACCATGTATTCCGGGTCAAT.

1.4.5 蛋白免疫印迹(Western Blot)法 分离收集实验大鼠的膝关节组织,称取约 30 mg,加入 1 mL RIPA蛋白裂解液,研磨仪组织匀浆。根据制造商说明操作提取组织总蛋白,采用 BCA 法蛋白定量,加入 Loading buffer(4×)于 100 ℃煮沸 5 min,然后采用 SDS-PAGE 电泳分离蛋白,电泳条件:80 V,30 min;120 V,60 min。随后采用 100 V,90 min 将电泳分离后的蛋白转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜(Millipore,美国),用 5% BSA 室温封闭 60 min,TBST 洗涤 5 次,5 min/次,用一抗(MMP-3, MMP-9, MMP-13, p-p65, p65, p-Akt, Akt, p-Iκ-Bα, Iκ-Bα 和 GAPDH,按 1:1 000 稀释)4 ℃孵育过夜,TBST 洗涤 5 次,5 min/次,用二抗(HRP 标记山羊抗兔 IG 和 HRP 标记山羊抗鼠 IG,按 1:10 000 稀释)室温孵育 90 min,TBST 洗涤 5 次,5 min/次,用 ECL 化学发光法(Millipore,美国)显影检测,ImageJ 软件分析灰度值。

1.4.6 病理学检测 采用苏木精-伊红染色和番红固



(a) 骨关节炎大鼠的机械性痛阈值

绿染色检测大鼠膝关节组织病理变化,分离收集实验大鼠的膝关节组织,置于 10% 福尔马林固定 24 h,然后用 EDTA 脱钙液(0.5 mmol/L, pH=8)脱钙 15 d,隔 3 d 换 1 次液,石蜡包埋,切成 4 μm 薄片,分别采用苏木精-伊红染色和番红固绿染色观察膝关节组织病理变化。

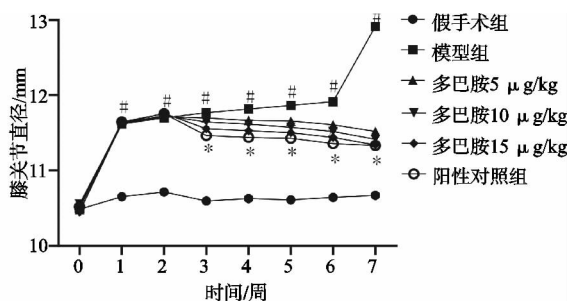
1.5 统计学方法

所有数据均采用 GraphPad Prism 8.0 软件分析,结果表示为 $\bar{x} \pm s$,用 One-Way ANOVA 进行多组数据的检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 多巴胺对骨关节炎大鼠机械性痛阈值和膝关节直径的影响

机械性痛阈值结果表明与假手术组大鼠相比,从第 3 周开始模型组大鼠的机械性痛阈值显著降低,持续至实验结束,给予多巴胺治疗组大鼠的机械性痛阈值显著增加,差异有统计学意义($P < 0.05$,见图 1a);膝关节直径结果表明与假手术后组大鼠相比,从第 3 周开始模型组大鼠的膝关节直径显著增加,持续至实验结束,给予多巴胺治疗组大鼠的膝关节直径显著减小,差异有统计学意义($P < 0.05$,见图 1b),上述结果表明本研究初步建立了实验性骨关节炎大鼠模型,并初步表明多巴胺具有潜在的骨关节炎治疗作用。



(b) 骨关节炎大鼠膝关节直径的影响

注:与假手术组比,* $P < 0.05$;与模型组比,* $P < 0.05$ 。

图 1 多巴胺对骨关节炎大鼠机械性痛阈值和膝关节直径的影响

2.2 多巴胺对骨关节炎大鼠外周血液和关节组织中炎症因子表达的影响

采用 ELISA 法检测骨关节炎大鼠外周血液中炎症因子的含量,结果表明与假手术组相比,模型组大鼠外周血液中 IL-1β, IL-6 和 TNF-α 的含量显著增加,同时给予多巴胺治疗显著降低骨关节炎大鼠外周血液中 IL-1β, IL-6 和 TNF-α 的含量,差异有统计学意义($P < 0.05$,见图 2 a~c);采用 RT-PCR 法检测骨关节炎大鼠关节组织中炎症因子的表达水平,结果表明与假手术组相比,模型组大鼠关节组织中 IL-1β, IL-6 和 TNF-α 的表达水平显著上调,同时给予多巴胺治疗显著下调骨关节炎大鼠关节组织中 IL-1β, IL-6 和 TNF-α 的表达水平,差异有统计学意

义($P < 0.05$,见图 2d~f)。

2.3 多巴胺对骨关节炎大鼠关节组织基质金属蛋白酶表达的影响

采用 RT-PCR 和 Western Blot 法检测骨关节炎大鼠关节组织中基质金属蛋白酶的表达水平,结果表明与假手术组相比,骨关节炎大鼠关节组织中 MMP-3, MMP-13 和 MMP-9 mRNA 表达水平显著上调,给予多巴胺治疗呈剂量依赖性下调骨关节炎大鼠关节组织中 MMP-3, MMP-13 和 MMP-9 mRNA 表达水平,差异有统计学意义($P < 0.05$,见图 3a~c);结果同时表明与假手术组相比,模型组大鼠关节组织中 MMP-3, MMP-13 和 MMP-9 蛋白表达水平显著上调,给予多巴胺治疗显

著下调 MMP-3, MMP-13 和 MMP-9 的蛋白表达水平, 差异有统计学意义($P<0.05$, 见图 3d)。

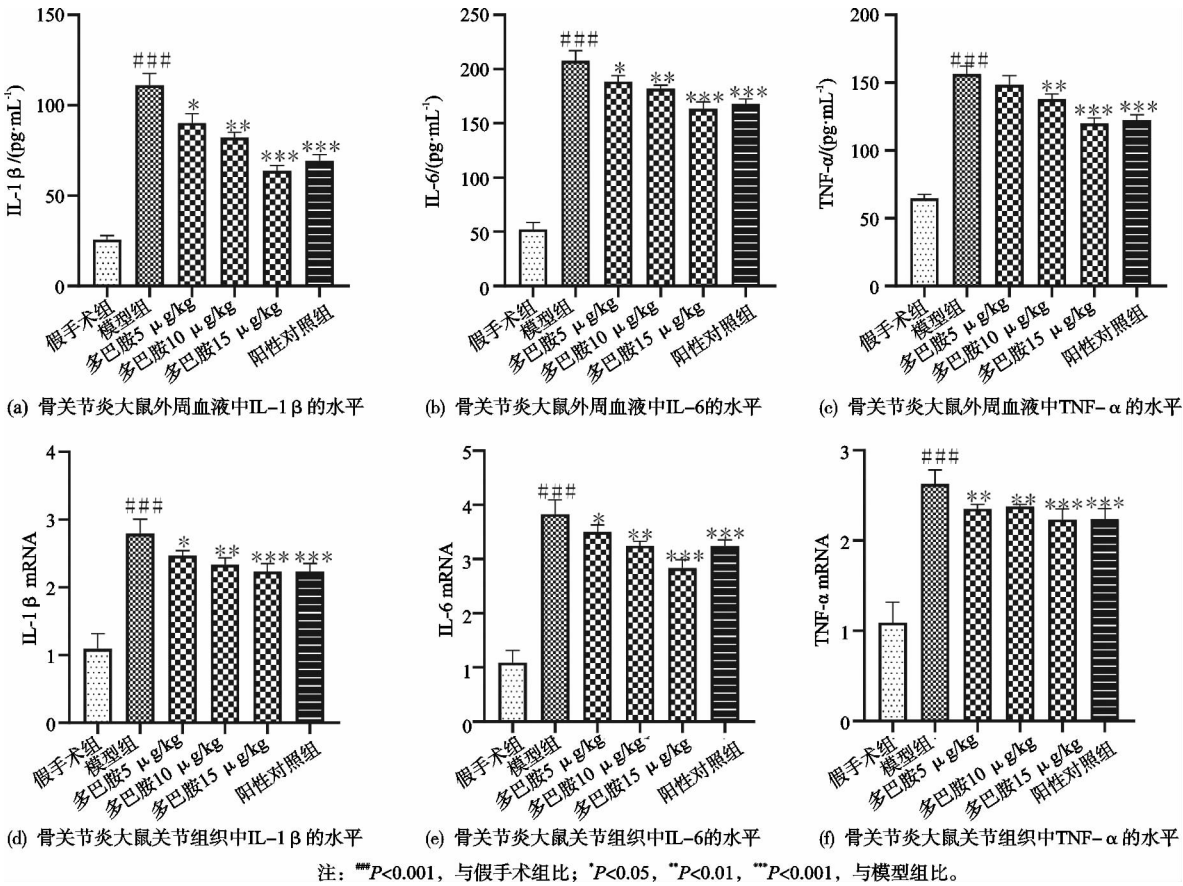


图 2 多巴胺对骨关节炎大鼠外周血液和滑膜组织中炎症因子表达水平的影响

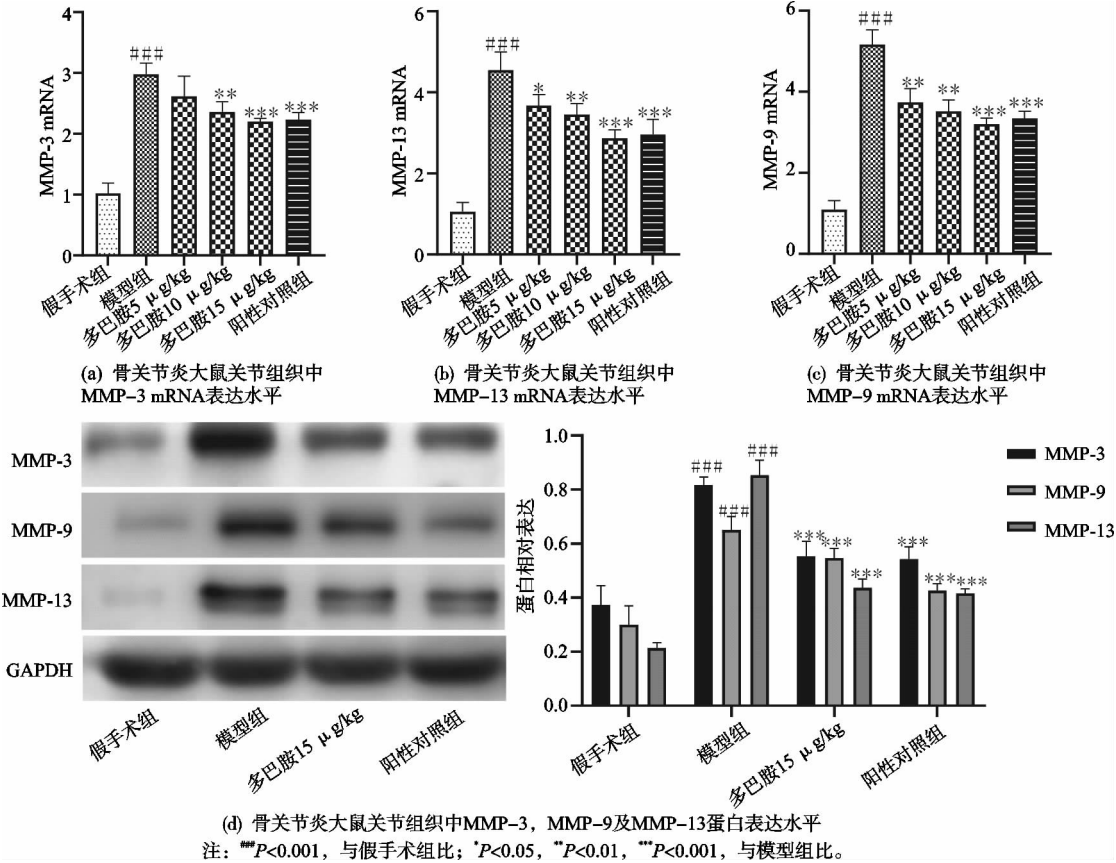


图 3 多巴胺对骨关节炎大鼠关节组织中金属基质蛋白酶表达的影响

2.4 多巴胺对骨关节炎大鼠关节组织病理学的影响

苏木精-伊红染色结果表明与假手术组相比,模型组大鼠的关节组织出现大量的炎性细胞浸润,水肿等炎症特点,给予多巴胺治疗能够缓解骨关节炎大鼠关节组织的炎性细胞浸润和水肿情况(见图 4a);番红固绿染色结果表明与假手术组相比,模型组大鼠关节组织出现软骨细胞坏死以及软骨基质破坏等情况,给予多巴胺治疗能够缓解骨关节炎大鼠关节组织出现的软骨细胞坏死和软骨基质破坏(见图 4b)。

2.5 多巴胺对骨关节炎大鼠关节组织 Akt/NF-κb 信号通路的影响

采用 Western blot 法检测骨关节炎大鼠关节组织中 Akt/NF-κb 通路信号分子的表达水平,结果表明与假手术组相比,模型组大鼠关节组织中 p-Akt/Akt, p-Iκ-Bα/Iκ-Bα 及 p-p65/p65 的表达水平显著上调,给予多巴胺治疗显著下调骨关节炎大鼠关节组织中 p-Akt/Akt, p-Iκ-Bα/Iκ-Bα, p-p65/p65 的表达水平,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 5。

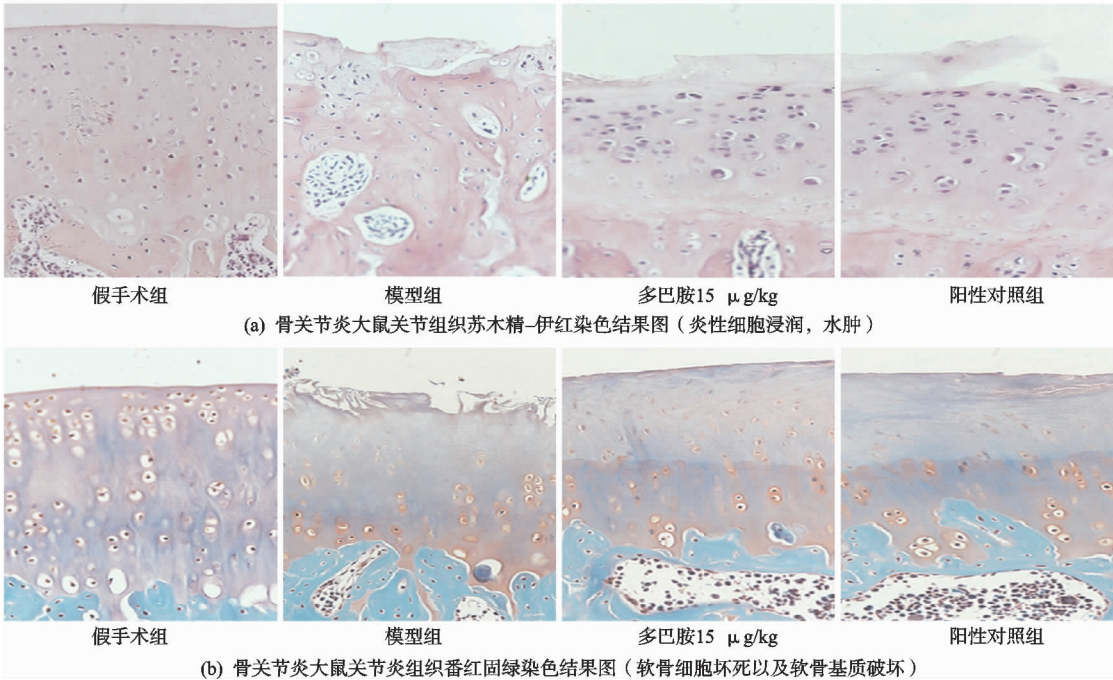


图 4 多巴胺对骨关节炎大鼠关节组织病理学的影响(100×)

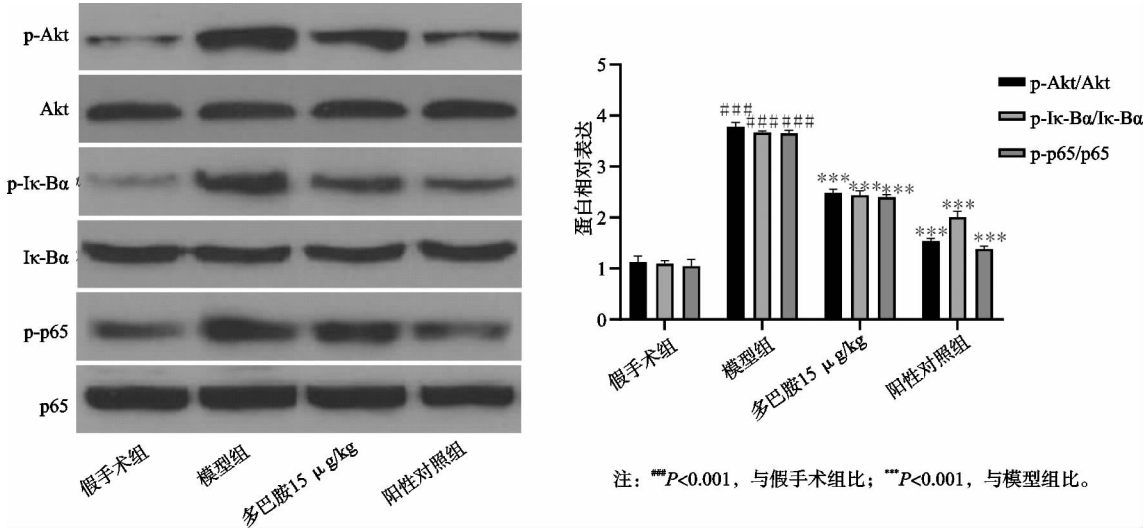


图 5 多巴胺对骨关节炎大鼠关节组织 Akt/NF-κb 信号通路的影响

3 讨论

骨关节炎(OA)是一种重大疾病,近年来骨关节炎患者人数持续增加,同时疾病严重程度也持续增加,造成社会 and 患者经济负担越来越大^[1]。OA 患者临床主要表现为关节疼痛和关节功能障碍,其临床治疗主要

包括手术和药物治疗,手术主要包括关节置换术,但其仅适用于晚期患者,药物治疗主要包括缓解疼痛和粘液补充治疗,但是长期使用药物能够引起全身副作用^[12-13]。因此,寻找更加安全有效的骨关节炎治疗药物是迫切的。近年来,膝关节前交叉韧带术广泛应用

于骨关节炎的病理和药物干预研究^[14]。在本研究中,首先建立了 OA 大鼠模型,结果表明模型组大鼠的机械性痛阈值显著减小,同时模型组大鼠的膝关节直径显著增大($P<0.05$),其符合骨关节炎患者的临床表现(关节疼痛和肿胀),表明本研究初步建立了骨关节炎大鼠模型,为后续的药物干预研究奠定了实验基础。此外,本研究表明局部关节腔注射 DA 能够显著增加 OA 大鼠的机械性痛阈值和缓解 OA 大鼠关节肿胀($P<0.05$),上述结果表明局部注射 DA 具有潜在的骨关节炎治疗作用。

临床上 OA 患者的软骨组织和滑膜组织中均有大量的炎症因子,主要包括 IL-1 β , TNF- α 和 IL-6^[15]。OA 病理过程中,大量的炎症细胞浸润关节组织能够引起各种促炎因子、趋化因子及蛋白酶释放,以 IL-1 β , TNF- α 和 IL-6 为主,因此抑制炎症因子的释放是 OA 治疗的一项重要策略^[16]。在本研究中,局部注射 DA 能够显著抑制 OA 大鼠外周血液中 IL-1 β , TNF- α 和 IL-6 的释放,同时也能够下调关节组织中 IL-1 β , TNF- α 和 IL-6 的表达水平($P<0.05$),上述结果表明局部注射 DA 能够抑制 OA 大鼠的炎症反应。

关节软骨是关节最主要的组成成分之一,软骨变性也是骨关节炎病变的主要特征之一^[17]。软骨细胞是关节软骨唯一负责合成细胞外基质成分并维持软骨组织完整性的细胞,机体发生炎症反应时能够引起软骨细胞功能障碍^[18]。炎症因子包括 IL-1 β , TNF- α 和 IL-6 均能够上调软骨细胞金属基质蛋白酶(MMP)表达,最终导致软骨细胞外基质(ECM)降解,促进骨关节炎的病理发展^[19]。本研究表明局部注射 DA 能够显著下调 OA 大鼠骨关节组织中 MMP-3, MMP-9 和 MMP-13 的表达,同时病理学结果表明 DA 也能够缓解 OA 大鼠的关节炎性细胞浸润和 ECM 降解。

核因子- κ B(NF- κ B)是与炎症最密切相关的转录因子,其能够通过调节一系列炎症因子来影响骨关节炎的病理过程^[20]。在正常生理条件下, p65 与 I κ B 形成聚合物存在于细胞浆中,炎症情况下 IKK 能够诱导 I κ B 发生磷酸化和降解,引起 p65 转移进入细胞核,与特异的启动子结合促进炎症因子包括 IL-6, IL-1 β , TNF- α 和 MMPs 的转录^[21-23]。因此,抑制 NF- κ B 信号通路是治疗炎症性疾病的重要策略之一,本研究表明 DA 能够抑制 OA 大鼠关节组织中 NF- κ B 信号通路活化。同时,磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白质丝氨酸苏氨酸激酶(PI3K/Akt)信号的激活还通过使下游分子 NF- κ B 磷酸化来诱导 MMP 的产生^[24-25]。本研究结果表明 DA 能够抑制 OA 大鼠关节组织中 PI3K/Akt 信号通路活化,上述结果表明多巴胺(DA)可能通过下调 PI3K/Akt 信号影响 NF- κ B 信号活化。

总的来说,本研究表明多巴胺局部注射骨关节炎大鼠,能够缓解 OA 大鼠关节肿胀和疼痛,且这种作用可能与调节 Akt/NF- κ B 通路有关。但是 DA 是否能够通过其他信号通路产生抗骨关节炎作用依然不清楚,仍需在后续研究中探讨。

参考文献

- [1] VINA E R, KWOH C K. Epidemiology of osteoarthritis: literature update[J]. Curr Opin Rheumatol, 2018, 30(2): 160-167.
- [2] 王锴, 董雪, 林剑浩. 影响膝关节骨关节炎患者生活质量预后因素的队列研究[J]. 中华骨科杂志, 2019, 39(18): 1149-1156.
- [3] 邢丹, 林剑浩. 中国骨关节炎研究现状及热点[J]. 中华骨科杂志, 2018, 38(3): 179-185.
- [4] HAQ S A, DAVATCHI F, DAHAGHIN S, et al. Development of a questionnaire for identification of the risk factors for osteoarthritis of the knees in developing countries. A pilot study in Iran and Bangladesh. An ILAR - COPCORD phase III study[J]. Int J Rheum Dis, 2010, 13(3): 203-214.
- [5] 何方舟, 张伟滨. 非甾体类抗炎药对中国骨关节炎患者疗效及胃肠道不良反应的 Meta 分析[J]. 中华关节外科杂志, 2018, 12(1): 69-76.
- [6] LOESER R F, COLLINS J A, DIEKMAN B O. Ageing and the pathogenesis of osteoarthritis[J]. Nat Rev Rheumatol, 2016, 12(7): 412-420.
- [7] PRIETO-ALHAMBRA D, JUDGE A, JAVAID M K, et al. Incidence and risk factors for clinically diagnosed knee, hip and hand osteoarthritis: influences of age, gender and osteoarthritis affecting other joints[J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(9): 1659-1664.
- [8] 何玉祥. 复方倍他米松联合塞来昔布治疗膝关节骨性关节炎的临床研究[J]. 现代药物与临床, 2019, 34(6): 1839-1842.
- [9] RUNEGAARD A H, FITZPATRICK C M, WOLDBYE D P D6, et al. Modulating dopamine signaling and behavior with chemogenetics: concepts, progress, and challenges [J]. Pharmacological Reviews, 2019, 71(2): 123-156.
- [10] WANG B, CHEN T, LI G, et al. Dopamine alters lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in microglial cells via activation of D1-like receptors[J]. Neurochemical research, 2019, 44(4): 947-958.
- [11] YAN Y Q, JIANG W, LIU L, et al. Dopamine controls systemic inflammation through inhibition of NLRP3 inflammasome[J]. Cell, 2015, 160(1/2): 62-73.
- [12] PAGENSTERT G, KNUPP M, VALDERRABANO V, et al. Realignment surgery for valgus ankle osteoarthritis [J]. Oper Orthop Traumatol, 2018, 21(1): 425-432.
- [13] RODRIGUES T A, FREIRE A O, BONFIM B F, et al. Strontium ranelate as a possible disease-modifying osteo-

- arthritis drug: a systematic review[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2018, 51(8): e7440.
- [14] 谢志平, 李宗文, 刘宁. 创伤性骨关节炎大鼠血清生化指标及软骨病理学观察[J]. *中华地方病学杂志*, 2018, 37(9): 699-701.
- [15] 王晓磊, 武晔, 姜淑华, 等. 通痹胶囊联合针刺治疗膝骨关节炎[J]. *国际中医中药杂志*, 2019, 41(2): 141-145.
- [16] VAN DALEN S C, BLOM A B, SLÖETJES A W, et al. Interleukin-1 is not involved in synovial inflammation and cartilage destruction in collagenase-induced osteoarthritis[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2017, 25(3): 385-396.
- [17] 李宏军, 施源, 何敏, 等. 千草方熏洗对膝骨关节炎大鼠软骨 YAP/Smad3 表达的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(5): 933-939.
- [18] WEI X L, DUAN Y W, LIU Y X, et al. Onshore-offshore wind energy resource evaluation based on synergetic use of multiple satellite data and meteorological stations in Jiangsu province, China[J]. *Front Earth Sci-Proc*, 2019, 13(1): 132-150.
- [19] ARASAPAM G, SCHERER M, COOL J C, et al. Roles of COX-2 and iNOS in the bony repair of the injured growth plate cartilage[J]. *J Cell Biochem*, 2006, 99(2): 450-461.
- [20] DORRINGTON M G, FRASER I D C. NF- κ B signaling in macrophages: dynamics, crosstalk, and signal integration. [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 705.
- [21] 李剑峰, 张君, 黑光, 等. 肌内效贴对早中期膝骨关节炎患者关节液炎性因子水平的影响[J]. *中华老年医学杂志*, 2018, 37(10): 1126.
- [22] KOMATSU W, ITOH K, AKUTSU S, et al. Nasunin inhibits the lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory mediator production in RAW264 mouse macrophages by suppressing ROS-mediated activation of PI3K/Akt/NF- κ B and p38 signaling pathways[J]. *Biosci Biotech Bioch*, 2017, 81(10): 1956-1966.
- [23] YAMAGUCHI K, KUMAKURA S, MURAKAMI T, et al. Ketamine suppresses the substance P-induced production of IL-6 and IL-8 by human U373MG glioblastoma/astrocytoma cells[J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(3): 687-692.
- [24] 张媛媛, 蒋昕钰, 李西海, 等. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨电针对膝骨关节炎模型大鼠软骨细胞凋亡的影响[J]. *康复学报*, 2019, 29(4): 34-40.
- [25] ZHOU M, LI P, KANG Q, et al. Shen-Yuan-Dan capsule inhibiting inflammatory reaction by regulating insulin receptor substrate 1/PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway in apolipoprotein E knockout mice fed with a high-fat diet [J]. *Acta Cardiologica Sinica*, 2017, 33(3): 285-291.

(收稿日期: 2020-03-16)

(上接第 15 页)

- [10] 杨明炜, 陆付耳, 徐丽君, 等. 紫花地丁对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌耐药质粒的消除作用[J]. *中西医结合研究*, 2009, 1(1): 27-28.
- [11] 郑险峰, 张金艳, 邵淑娟, 等. 白头翁对金黄色葡萄球菌和产气肠杆菌抑菌作用的研究[J]. *牡丹江师范学院学报: 自然科学版*, 2011(2): 29-30.
- [12] 陈柳萌, 曹树稳, 余燕影. 白花蛇舌草-半枝莲药对提取物抑菌活性部位研究[J]. *时珍国医国药*, 2011, 22(1): 93-95.
- [13] 霍佳楠, 姜晓文, 许晶, 等. 蒲公英水提物对体外金黄色葡萄球菌生物膜形成的影响[J]. *中兽医医药杂志*, 2015(1): 12-15.
- [14] 崔玉莹, 王宪贝, 李玉坤, 等. 金银花、连翘水煎液对金黄色葡萄球菌的抑制作用研究[J]. *光明中医*, 2017, 32(18): 2637-2638.
- [15] JIANG N, QIN C H, HOU Y L, et al. Serum TNF- α , erythrocyte sedimentation rate and IL-6 are more valuable biomarkers for assisted diagnosis of extremity chronic osteomyelitis [J]. *Biomark Med*, 2017, 11(8): 597-605.
- [16] YOSHII T, MAGARA S, MIYAI D, et al. Local levels of interleukin-1 β , -4, -6 and tumor necrosis factor α in an experimental model of murine osteomyelitis due to *Staphylococcus aureus* [J]. *Cytokine*, 2002, 19(2): 59-65.
- [17] JIANG N, MA YF, JIANG Y, et al. Clinical characteristics and treatment of extremity chronic osteomyelitis in southern China: a retrospective analysis of 394 consecutive patients [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94(42): e1874.
- [18] GARCÍA-ALVAREZ F, NAVARRO-ZORRAQUINO M, CASTRO A, et al. Effect of age on cytokine response in an experimental model of osteomyelitis[J]. *Biogerontology*, 2009, 10(5): 649-658.

(收稿日期: 2020-04-13)