

太白通络凝胶膏对兔膝关节炎炎症因子及关节软骨的影响

李哲¹ 柳源¹ 李彦民² 杨锋^{1,2△}

[摘要] 目的:分析太白通络凝胶膏对兔膝关节炎兔软骨细胞凋亡的抑制作用及炎症因子表达水平的影响,并探讨其作用机理。方法:采用改良 Hulth 法制备兔膝关节炎兔模型,ELISA 检测兔关节液 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量变化情况;免疫组化检测关节软骨中 MMP-13、TGF- β 1、Col-Ⅱ 表达水平;取兔膝关节软骨制作石蜡切片,并用苏木精-伊红(HE)染色、甲苯胺蓝(TB)染色,用改良 Mankin's 标准进行评分。结果:太白通络凝胶膏可降低兔关节液中炎症因子 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 表达水平,差异有统计学意义($P<0.05$)。太白通络凝胶膏可提高兔关节软骨组织中 TGF- β 1、Col-Ⅱ 的表达水平,降低 MMP-13 表达水平,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论:太白通络凝胶膏可降低兔关节液及关节软骨中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、MMP-13 的表达,促进 TGF- β 1、Col-Ⅱ 的表达,缓解兔关节软骨细胞的凋亡,从而对关节软骨起到保护及修复的作用。

[关键词] 太白通络凝胶膏;膝骨关节炎;软骨细胞;细胞凋亡;炎症因子

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2021)08-0001-07

Efficacy of Taibai Tongluo Gel Cream on Inflammatory Factors and Articular Cartilage in a Rabbit Model of Osteoarthritis of the Knee

LI Zhe¹ LIU Yuan¹ LI Yanmin² YANG Feng^{1,2△}

¹Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, Shaanxi China;

²Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, Shaanxi China.

Abstract Objective: To analyze the efficacy of Taibai Tongluo gel cream on the inhibition of chondrocyte apoptosis and the expression level of inflammatory factors in rabbits with knee osteoarthritis, and to explore its mechanism of action.

Methods: Rabbit model of knee osteoarthritis was prepared by the modified Hulth method, and the changes of IL-6, IL-1 β and TNF- α contents in rabbit joint fluid were detected by ELISA. The expression levels of MMP-13, TGF- β 1 and Col-Ⅱ in articular cartilage were detected by immunohistochemical detection. Paraffin sections were made from rabbit knee cartilage and stained with hematoxylin-eosin (HE) and toluidine blue (TB), and was scored with modified Mankin's criteria.

Results: Taibai Tongluo gel cream reduced the expression levels of inflammatory factors IL-6, IL-1 β and TNF- α in rabbit knee joints, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Taibai Tongluo gel cream increased the expression levels of TGF- β 1 and Col-Ⅱ and decreased the expression level of MMP-13 in rabbit knee cartilage tissue, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion:** Taibai Tongluo gel cream can reduce the expression of IL-6, IL-1 β , TNF- α and MMP-13 in rabbit knee arthritis cartilage, promote the expression of TGF- β 1 and Col-Ⅱ, and alleviate the apoptosis of knee joint chondrocytes, thus playing a protective and repairing role in joint cartilage.

Keywords: Taibai Tongluo gel cream; knee osteoarthritis; chondrocytes; apoptosis; inflammatory factors

基金项目:国家自然科学基金项目(81973889)

陕西省教育厅服务地方科学研究计划(19JC013)

¹ 陕西中医药大学(陕西 咸阳, 712000)

² 陕西中医药大学附属医院

△通信作者 E-mail: yangfengdudu@163.com

膝骨性关节炎(Knee Osteoarthritis, KOA)又称膝退行性关节炎,是以膝关节软骨破坏及滑膜病变等为主要病变特征的慢性疾病,其中异常炎症反应及关节软骨细胞凋亡是导致关节组织发生退行性变化的重要原因之一^[1-2]。相关研究显示^[3-7]中医药对膝骨性关

节炎的治疗已取得大量成果。然而由于中药成分比较复杂,相关作用机制尚不明确。

太白通络凝胶膏是陕西省名中医李彦民教授的经验方,采用太白山道地“七药”铁牛七 30 g、制南星 10 g、细辛 10 g、川牛膝 15 g、秦椒 10 g 等五味药组成并结合现代制剂工艺制成的外用制剂,初步临床研究疗效显著^[8-9]。本次研究通过观察太白通络凝胶膏对兔膝关节炎模型关节软骨中 TGF- β 1、MMP-13、Col-II 及关节液中 IL-6、IL-1 β 及 TNF- α 表达的影响,来研究太白通络凝胶膏治疗膝关节炎的作用机理,为太白通络凝胶膏在临床应用及推广提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

40 只雌雄各半新西兰白兔,SPF 级,3~4 个月龄,体质量 1.8~2.0 kg(西安易诺谷生物科技有限公司供给,实验动物中心许可证号为 SCXK(陕)2017-002)。

1.2 实验药物及试剂

太白通络凝胶膏由铁牛七 30 g、制南星 10 g、细辛 10 g、川牛膝 15 g、秦椒 10 g 五味中药组成,由陕西中医药大学药学院制备而成,双氯酚酸二乙胺乳胶剂(北京诺华制药有限公司生产,国药准字 H19990291)、苏木精-伊红(HE)及甲苯胺蓝(TB)(百奥莱博生物科技有限公司)、兔 IgG-免疫组化试剂盒(博士德生物公司)、DAB 辣根过氧化物酶显色试剂盒(碧云天生物技术有限公司)、柠檬酸盐缓冲剂(科昊生物工程有限责任公司)、MMP-13、TGF- β 1、Col-II 试剂盒(Proteintech)。

1.3 实验仪器

外科手术器械(手术剪、手术刀、止血钳、缝合针、组织镊、无菌敷料等)、冰冻切片机(湖北安立信医疗实业有限公司,中国)、生物组织包埋机(天津爱华医疗器械有限公司,中国)、光学显微镜(Leica 仪器有限公司,德国)、恒温水浴锅(常州天瑞仪器有限公司,中国)、高速离心机(杭州奥盛仪器有限公司,中国)。

1.4 方法

1.4.1 兔模型制备与处理 将 40 只新西兰白兔,用随机数字表法分为 4 组(每组 10 只),A 组为空白组、B 组为模型组、C 组为对照组(玻璃酸钠干预组)、D 组为实验组(太白通络凝胶膏干预组)。除空白组外,实验组、对照组和模型组 3 组实验兔均采用改良 Hulth 法^[1]构建兔膝关节炎模型。

待造模成功后,对兔右侧下肢关节周围进行脱毛处理,空白组给予同等规格的医用胶布敷贴,实验组、对照组、模型组分别给予太白通络凝胶膏、双氯酚酸二乙胺乳胶剂、医用胶布,1 次/d,8 h/次,连续 4 周。

1.4.2 标本制备及观察 在给药结束后,采用空气栓塞法处死 4 组实验兔。切开发节囊,肉眼仔细观察关

节软骨表面的形态变化及软骨厚度、色泽等大体变化。实验兔处死后,在切开兔膝关节之前,实施膝关节穿刺术,在右膝关节周围用碘伏消毒后,首先向关节腔注射 1.0 mL 玻璃酸钠注射液,充分活动膝关节并抽取关节液,立刻经 4℃、转速 4 500 r/min 离心,取其上清液置入-20℃冰柜内保存待用。使用 ELISA 检测关节液 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量。关节液采集完毕后,取 3 mm×3 mm、厚约 0.5 mm 的股骨髁关节面软骨组织,放入 10%中性组织固定液中浸泡 24 h,清水冲洗后,浸入缓冲液脱钙 20 d,再进行脱水、透明、浸蜡、包埋和切片,参考试剂盒说明书染色。

关节液采集完毕后,切开兔右膝关节囊,充分暴露膝关节,观察关节面软骨色泽、光滑度、缺损等大体变化。按 Pelletier 标准^[10]进行评分,在光镜下观察 HE 染色、TB 染色后的切片,观察关节软骨变化,参考 Mankin's 评分^[11]评估兔膝关节软骨缺损严重程度,评分越高表示软骨缺损程度越严重。用 ELISA 方法测量关节液中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 表达水平。用免疫组化法测量关节软骨中 MMP-13、TGF- β 1、Col-II 表达水平,在光镜下观察、摄图,使用 Mage-Pro Plus 6.0 图像分析软件对图片进行分析,计算视野内所有选定阳性细胞的平均反应强度及平均光密度(AOD)。

1.5 统计学方法

应用统计软件 SPSS 20.0 对实验数据进行统计分析,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行组间比较,定性资料用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 影像学观察

实验过程中所有造模动物切口愈合良好,无兔子死亡,新西兰兔模型均单腿跛行。在造模后连续驱赶兔活动 4 周,随机从各组选出 5 只兔子行双膝关节正侧位 DR。空白组兔双膝关节正侧位 DR 提示左右膝关节未见畸形,关节面光整,未见骨赘物,关节间隙未见狭窄。模型组、对照组、实验组双膝关节正侧位 DR 提示右膝关节呈内翻畸形,关节间隙狭窄,关节周围骨赘明显;左膝关节未见明显异常,见图 1。

2.2 关节软骨改变大体观察

按照 Pelletier 标准^[10]评分结果见表 1 及图 2,空白组大体观察下其右膝关节表面光滑,有弹性,浅蓝色,半透明,无裂纹、缺损及软化;模型组关节软骨表面大多呈黄色,斑片状或广泛性粗糙、糜烂,甚至出现裂纹、缺损及软化,失去弹性;对照组与实验组关节软骨的病理变化肉眼观察基本相同,表面大多呈黄色,斑片状或广泛性略显粗糙,未见裂纹或缺损。

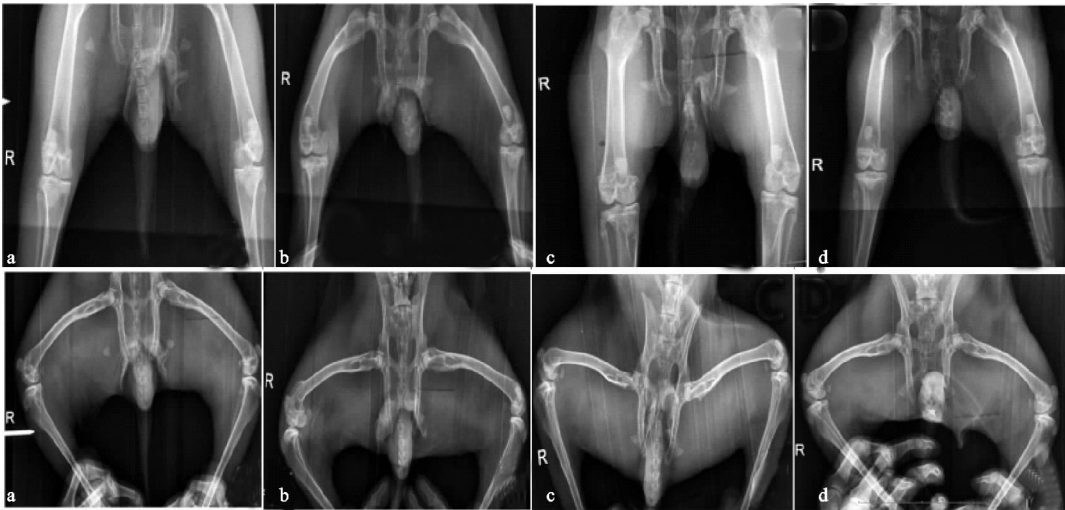


图 1 兔膝关节正侧位 DR 片

表 1 兔膝关节软骨面大体 Pelletier 评分(例)

组别	数量/只	Pelletier 评分/分					平均分/分 ($\bar{x}\pm s$)
		0	1	2	3	4	
空白组	10	8	0	0	0	0	0.00
模型组	10	0	1	3	5	1	$2.60\pm0.84^{1)}$
对照组	10	0	2	5	3	0	$2.10\pm0.73^{1)2)}$
实验组	10	0	4	4	2	0	$1.80\pm0.79^{1)2)3)}$

注:1)模型组、对照组、实验组与空白组比较, $P<0.001$;2)对照组和实验组与模型组比较, $P<0.001$;3)对照组与实验组比较, $P>0.05$ 。

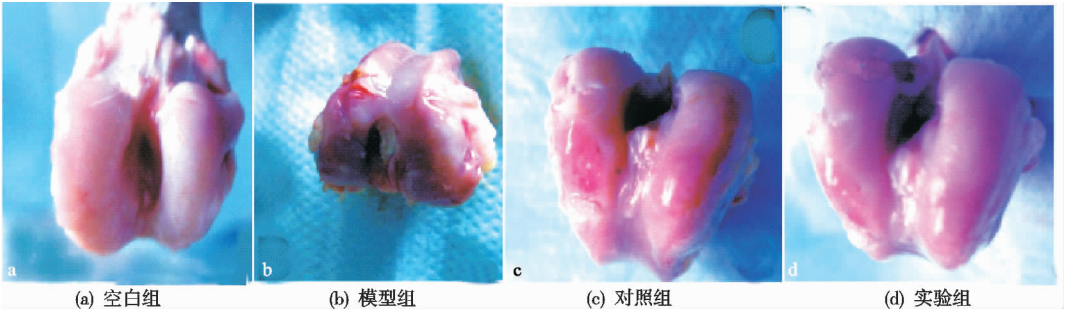


图 2 兔膝关节大体观察

2.3 软骨切片光镜下组织病理学变化

HE 及 TB 染色结果均显示:A 组关节软骨结构完整,表面光滑,轮廓清晰,无裂隙或缺损,四层结构清晰,潮线完整染色后软骨层呈深蓝色,钙化层呈淡蓝色,软骨下骨呈蓝紫色;B 组关节软骨层明显缺损、变薄,部分区域软骨全层丧失,切线层严重破坏,呈斑片状或广泛性碎裂或缺失,细胞减少,大量簇聚,潮线破坏;C 组关节软骨层次基本完整,切线层不规则,染色不均匀,细胞数量减少,损伤程度明显好于 B 组,软骨层轻度缺损,部分有裂隙,潮线尚完整;D 组关节软骨层,切线层软骨细胞部分缺失,少许表浅裂隙,潮线尚完整,见图 3-图 4。

从 Mankin's^[11]评分表结果显示:各组评分结果比较,差异有统计学意义($P<0.001$);与空白组评分相

比较,模型组、对照组、实验组评分差异有统计学意义($P<0.001$);相比于模型组,对照组和实验组评分较低,差异有统计学意义($P<0.001$);但对照组与实验组之间评分差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 各组兔右膝关节软骨 Mankin's 评分($\bar{x}\pm s$)

组别	数量/只	Mankin's 评分/分
空白组	10	0.10 ± 0.32
模型组	10	$9.60\pm1.51^{1)}$
对照组	10	$5.9\pm1.37^{1)2)}$
实验组	10	$5.6\pm1.26^{1)2)3)}$
<i>F</i>		97.99
<i>P</i>		<0.01

注:1)模型组、对照组、实验组与空白组比较, $P<0.001$;2)对照组和实验组与模型组比较, $P<0.05$;3)对照组与实验组比较, $P>0.05$ 。

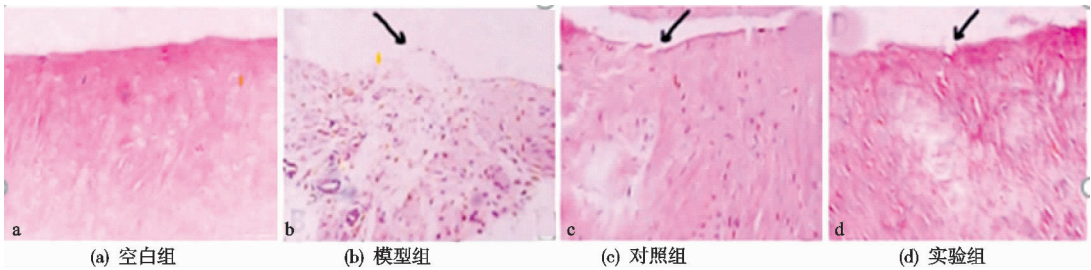


图3 兔膝关节软骨观察(HE染色,×10)

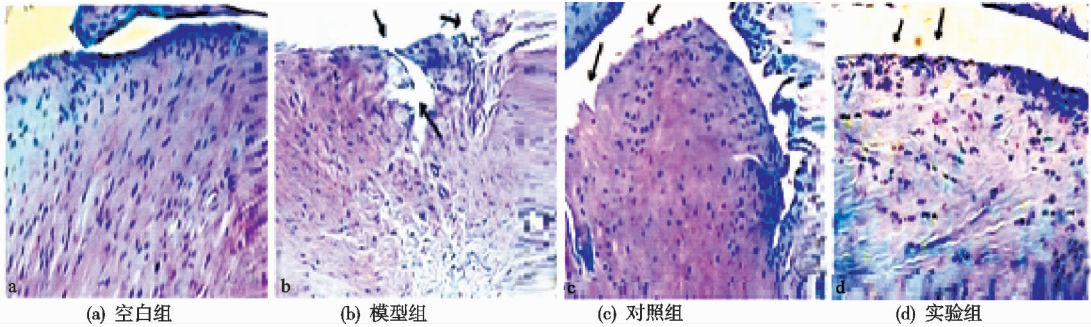


图4 兔膝关节软骨观察(TB染色,×10)

2.4 关节液中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量检测

模型组、对照组、实验组 IL-6 浓度与空白组,差异有统计学意义($P<0.001$);对照组、实验组浓度值低于模型组,差异有统计学意义($P<0.001$);实验组与对照组比较,实验组关节液中 IL-6 含量偏高,但差异无统计学意义($P>0.05$)。空白组关节液中 IL-1 β 表达水平明显低于模型组、对照组和实验组,差异有统计学意义

($P<0.001$);对照组、实验组浓度值低于模型组,差异有统计学意义($P<0.001$);实验组与对照组比较,实验组关节液中 IL-1 β 含量偏高,但差异无统计学意义($P>0.05$)。模型组、对照组、实验组 TNF- α 浓度较空白组高,差异有统计学意义($P<0.001$);对照组、实验组浓度值低于模型组,差异有统计学意义($P<0.001$);对照组与实验组差异无统计学意义($P>0.05$),见表3及图5。

表3 太白通络凝胶膏对兔膝关节液中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	数量/只	IL-6/(ng · mL ⁻¹)	IL-1 β /(pg · mL ⁻¹)	TNF- α /(pg · mL ⁻¹)
空白组	10	1.07 \pm 0.23	42.36 \pm 11.59	69.56 \pm 12.25
模型组	10	1.93 \pm 0.26 ¹⁾	102.55 \pm 22.55 ¹⁾	120.07 \pm 27.67 ¹⁾
对照组	10	1.49 \pm 0.28 ¹⁾	61.88 \pm 7.48 ¹⁾²⁾	75.15 \pm 10.09 ¹⁾²⁾
实验组	10	1.60 \pm 0.24 ¹⁾²⁾³⁾	65.78 \pm 10.02 ¹⁾²⁾³⁾	85.44 \pm 9.81 ¹⁾²⁾³⁾
<i>F</i>		19.65	31.43	18.43
<i>P</i>		0.03	<0.01	<0.01

注:1)模型组、对照组、实验组与空白组比较, $P<0.001$;2)对照组和实验组与模型组比较, $P<0.001$;3)对照组与实验组比较, $P>0.05$ 。

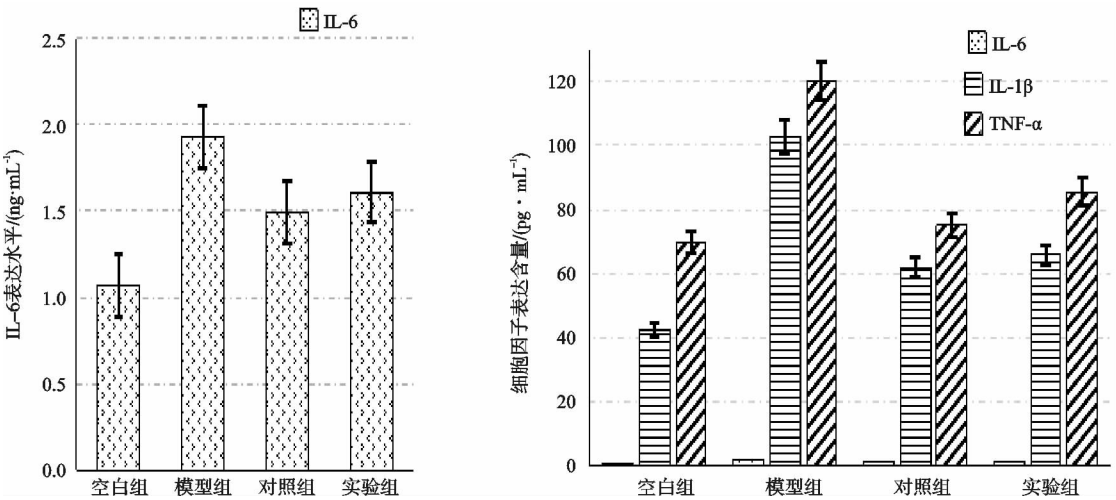


图5 兔膝关节液中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的表达

2.5 关节软骨中 Col-Ⅱ、MMP-13、TGF-β1 表达水平

各组软骨组织中 Col-Ⅱ、MMP-13、TGF-β1 的平均光密度比较,差异有统计学意义($P<0.001$);与空白组比较,模型组、对照组和实验组软骨细胞中 MMP-13 的平均光密度均值明显升高,差异有统计学意义($P<0.001$);相比于对照组与实验组,模型组 MMP-13 的平均光密度均值略高,差异有统计学意义($P<0.001$);而实验组与对照组相比差异不明显,差

异无统计学意义($P>0.05$),见表 4 及图 6。

光镜下观察显示:空白组关节软骨细胞中可见少量 MMP-13 表达;与空白组比较,对照组和实验组关节软骨细胞中 MMP-13 呈高表达状态;相比于其他三组,模型组软骨中表达 MMP-13 的软骨细胞数量最多,见图 7。空白组关节软骨细胞中 Col-Ⅱ、TGF-β1 呈高表达水平;对照组和实验组的软骨细胞中 Col-Ⅱ、TGF-β1 含量低于空白组,但高于模型组,见图 8-图 9。

表 4 关节软骨 Col-Ⅱ、MMP-13、TGF-β1 表达的平均光密度($\bar{x}\pm s$)

组别	Col-Ⅱ	MMP-13	TGF-β1
空白组	0.097 8±0.011 8	0.092 4±0.016 3	0.172 9±0.023 9
模型组	0.045 8±0.009 7 ¹⁾	0.204 4±0.018 8 ¹⁾	0.097 8±0.018 9 ¹⁾
对照组	0.061 3±0.011 1 ¹⁾²⁾	0.173 6±0.018 3 ¹⁾²⁾	0.131 8±0.016 5 ¹⁾²⁾
实验组	0.059 5±0.015 2 ¹⁾²⁾³⁾	0.166 9±0.017 4 ¹⁾²⁾³⁾	0.127 8±0.013 3 ¹⁾²⁾³⁾
<i>F</i>	15.81	67.47	28.35
<i>P</i>	0.01	<0.01	<0.01

注:1)对照组、实验组、模型组与空白组比较, $P<0.001$;2)实验组、对照组与模型组比较, $P<0.001$;3)对照组与实验组比较, $P>0.05$ 。

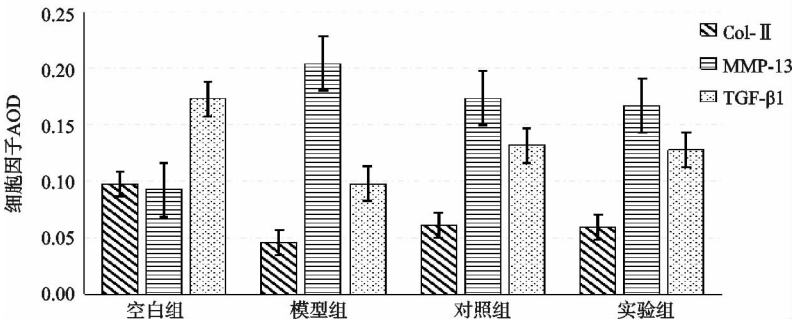


图 6 关节软骨 Col-Ⅱ、MMP-13、TGF-β1 细胞因子表达的 AOD

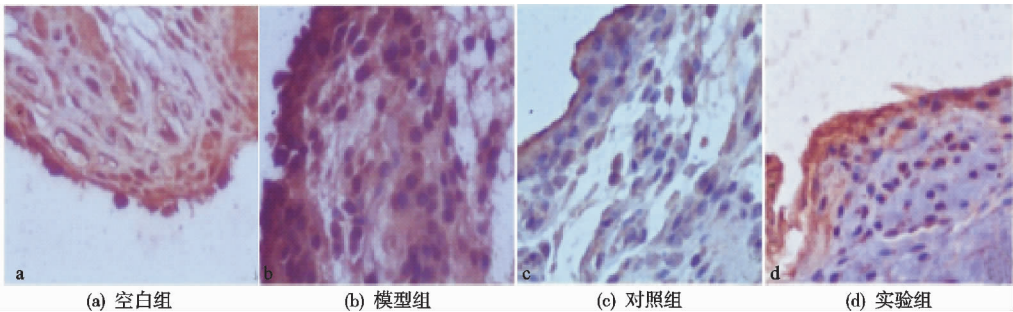


图 7 MMP-13 免疫组化表达(×40)

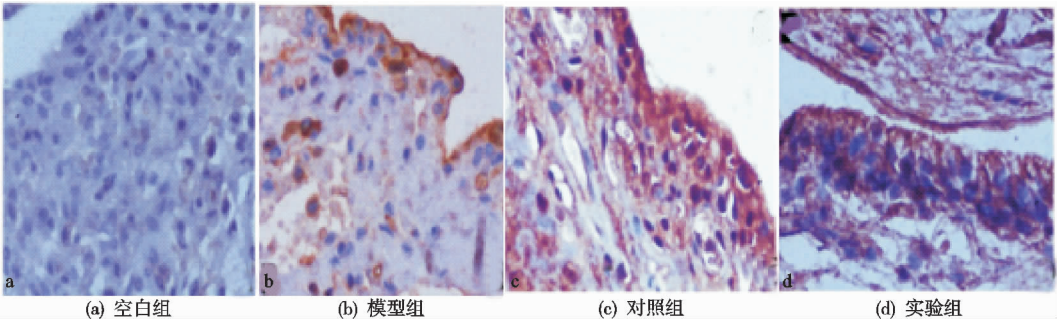


图 8 TGF-β1 免疫组化表达(×40)

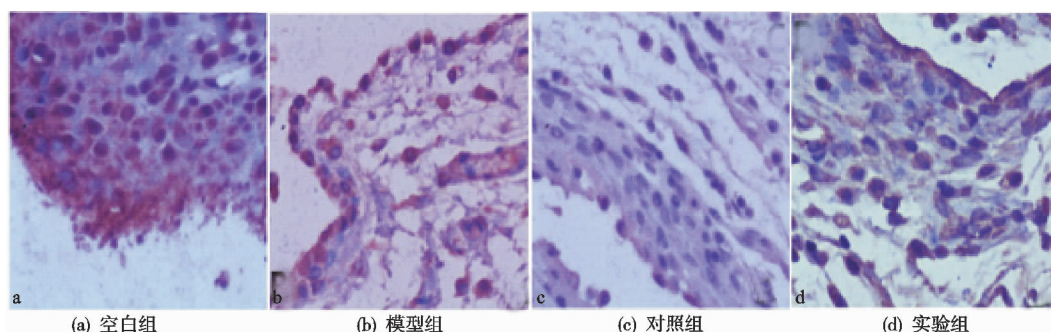


图9 Col-II免疫组化表达($\times 40$)

3 讨论

膝骨性关节炎(KOA)与外伤、炎症、衰老、代谢和免疫等诸多因素有关,但其确切发病机制尚不明确。近年来越来越多的研究证实,KOA 关节软骨细胞外基质合成与降解失衡是造成关节软骨变性的重要原因之一,其中炎症因子及软骨代谢相关细胞因子在骨关节炎发病中发挥着重要作用^[12-13]。目前,中医药治疗膝骨性关节炎的主要手段膏药外敷以其简便经济,作用直接、疗效卓著的特点在中医外治法中占有非常重要的地位^[14-15]。太白通络凝胶膏以名老中医学术经验为指导,辨证与辨病相结合,参考对骨关节炎中医药研究文献,提出“通络除痹”的中医治疗原则,并根据多年临床经验,自拟太白通络方治疗骨关节炎,全方由太白山地道草药铁牛七 30 g、制南星 10 g、细辛 10 g、川牛膝 15 g、秦椒 10 g 五味中药组成。临床应用证实,太白通络凝胶膏对骨关节炎等退行性骨关节疾病临床疗效显著^[9]。本研究通过构建膝骨关节炎兔模型,证实了太白通络凝胶膏能够降低兔模型关节液中炎症因子 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平,以起到治疗作用。

骨性关节炎发生的主要细胞病变过程以软骨细胞凋亡为主,其中 MMP/TIMP-1 动态平衡失调可能起着决定作用^[16]。关节软骨在代谢方面 MMPs 起着重要作用^[17],而 MMP-13 则是降解胶原的主要酶,其作用最强^[18]。上述 MMPs 不能单独对软骨的破坏起作用,而是相互协同产生作用。MMP-13 可裂解 I、II、III 型胶原及胶原溶解后初始产物,而关节软骨细胞外基质主要成分之一是 II 型胶原,其次为蛋白聚糖,II 型胶原遭到降解和破坏后,会导致软骨支架结构的崩塌^[19]。TGF- β 1 促进骨间充质细胞分化为软骨细胞,并促进 I 型胶原、骨基质蛋白、蛋白聚糖等软骨细胞基质主要成分的合成^[20]。TGF- β 1 可以抑制 IL-1 对软骨细胞外基质中蛋白多糖的分解且抑制 MMP 的产生,从而阻止 MMP 对软骨细胞基质的破坏^[21-22]。Col-II 代谢的异常将会造成软骨基质的降解,因此 Col-II 可以作为衡量软骨细胞分化异常和损伤的重要依据。

早期对太白通络凝胶膏的研究以临床疗效研究为主,并未对其具体机制进行系统研究。本实验证明太白通络凝胶膏能够调控兔膝关节软骨组织中凋亡抑制因子 MMP-13 的表达水平,从而抑制 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等炎症因子诱导的软骨细胞的凋亡,其抑制作用与太白通络凝胶膏组成方药的主要成分有关。太白通络凝胶膏组成方药为太白山地道药材,其中铁牛七(别名八百棒、雪上一枝蒿、铁棒锤、三转半)为陕西常用地道药材,其性热,味辛、苦,有大毒,具有活血祛瘀、祛风除湿、止痛消肿、兴奋精神、消炎镇痛等功效。天南星味苦辛,性温,归肺、肝、脾经,功能消肿镇痛,燥湿化痰,祛风定惊,消痞散结。细辛具有祛风散寒、止痛通窍、止咳平喘、通利血脉的功效,川牛膝具有逐瘀通经、通利关节、利尿通淋、催产下胎之效。又因川牛膝活血化瘀能力强于怀牛膝,故此方中用川牛膝而非怀牛膝以期获得活血化瘀兼补肝肾的效果。秦椒现多称为花椒,具有除寒湿痹痛、坚齿发、明目之功效,现代药理学研究发现花椒还具有镇痛作用,可能与花椒中所含茴香碱有关^[23]。取铁牛七散寒除湿、祛瘀止痛的作用,是为君药;制南星燥湿化痰、散结消肿为臣药,细辛、秦椒散寒止痛为佐药,川牛膝活血通络、引药直达病所为使药,共奏散寒除湿、通络止痛之功。在临床使用中太白贴膏治疗膝骨关节炎在缓解疼痛、改善膝关节功能、改善中医证候、提高患者生活质量等方面具有明显优势^[9]。

本实验结果证明:外敷太白通络凝胶膏治疗兔 KOA 机理是通过降低关节液中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α , 减缓关节炎症反应和关节软骨的损伤,并且减少 MMP-13 表达,促进 Col-II、TGF- β 的分泌,抑制关节软骨细胞的破坏,延缓关节软骨损伤,起到保护软骨细胞的作用,为太白通络凝胶膏在临床应用及推广提供了理论依据及药效学基础。

参考文献

- [1] GOLDRING M B, GOLDRING S R. Osteoarthritis[J]. Journal of Cellular Physiology, 2010, 213(3): 626-634.
- [2] DUBEY N K, MISHRA V K, DUBEY R, et al. Combating osteoarthritis through stem cell therapies by rejuve-

- uating cartilage; a review[J]. *Stem Cells International*, 2018;5421019.
- [3] 杨毅峰,黄健. 骨性关节炎的流行病学研究进展[J]. *医学综述*,2017,23(5):497-499.
- [4] 谷卓然,关雪峰,杨永菊,等. 中医外治法治疗膝骨性关节炎研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*,2018,20(11):208-210.
- [5] 孙振新,杨矛,朱玲玲,等. 中医药治疗膝骨关节炎研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*,2017,19(1):111-114.
- [6] 高成林,贾晓斌,陈彦,等. 中药经皮给药制剂的研究进展[J]. *中国药房*,2009,20(9):707-709.
- [7] 王文岳,谢利民,徐颖鹏. 近十年中药治疗膝骨性关节炎的 Meta 分析[J]. *中国中医骨伤科杂志*,2011,19(10):37-39.
- [8] 孙静,王昌利,郭东艳,等. 试析太白“七药”资源现状、资源开发存在问题与应对措施[J]. *中国民族民间医药*,2010,19(3):42-43.
- [9] 杨锋,李引刚,李彦民. 太白膏治疗寒湿阻络型膝骨性关节炎 100 例[J]. *中国中医骨伤科杂志*,2015,23(5):39-40.
- [10] PELLETIER J P,JOVANOVIC D,FERNANDES J C,et al. Reduced progression of experimental osteoarthritis in vivo by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase[J]. *Arthritis and Rheumatism*,1998,41(7):1275-1286.
- [11] MANKIN H J,DORFMAN H,LIPPIELLO L,et al. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteo-arthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data[J]. *The Journal of Bone and Joint Surgery: American Volume*,1971,53(3):523-527.
- [12] 陈高扬,张桂珍,王庆宇,等. 成骨细胞与软骨细胞在骨性关节炎中的相互作用综述[J]. *中国体视学与图像分析*,2017,22(2):230-237.
- [13] KIM J R,YOO J J,KIM H A. Therapeutics in osteoarthritis based on an understanding of its molecular pathogenesis[J]. *Int J Mol Sci*,2018,19(3):19030674.
- [14] 王爱国,吕佳康,谷福顺,等. 中医中药治疗膝骨性关节炎的新药研究及评价[J]. *中国临床药学杂志*,2017,33(16):1610-1612.
- [15] 徐方琼,于德宁,石立鹏,等. 中医药治疗膝骨关节炎研究进展[J]. *中医临床研究*,2018,10(10):146-149.
- [16] ZOU L,LIU J,LU H. Influence of protein kinase RIPK4 expression on the apoptosis and proliferation of chondrocytes in osteoarthritis[J]. *Molecular Medicine Reports*,2018,17(2):3078-3084.
- [17] WOJDASIEWICZ P,PONIATOWSKI L A,SZUKIEWICZ D. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis[J]. *Mediators of Inflammation*,2014:561459.
- [18] 袁颖超,廖秋菊. 炎性细胞因子与膝骨关节炎诊断及治疗的最新研究进展[J]. *药学实践杂志*,2018,36(1):9-12.
- [19] AKHTAR N,MILLER M J,HAQQI T M. Effect of a Herbal-Leucine mix on the IL-1 β -induced cartilage degradation and inflammatory gene expression in human chondrocytes[J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*,2011,11(1):66.
- [20] RAI P K,SINGH A K,SINGH O P,et al. Efficacy of leech therapy in the management of osteoarthritis (Sandhivata)[J]. *International Quarterly Journal of Research in Ayurveda*,2011,32(2):213-217.
- [21] AI Z,NING X,SHOU T,et al. Association of interleukin-6 promoter polymorphism with knee osteoarthritis: a meta-analysis [J]. *Chinese Medical Journal*,2014,127(13):2492-2496.
- [22] 樊志强,庞炜,杨连甲,等. 白介素 1 受体拮抗剂及转化生长因子 β 1 对兔膝关节骨性关节炎(OA)的治疗研究[J]. *现代生物医学进展*,2011,11(13):2447-2450.
- [23] 郑瑾,张丽娟. 花椒药用研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*,2008,10(11):69-71.

(收稿日期:2020-11-16)