

• 临床研究 •

膝痹病经筋-证候分型与软骨相关因子的关系分析

胡华^{1△} 李秀成¹ 周刚¹ 张慧芹¹ 周显臣¹

[摘要] 目的:探讨膝痹病关节软骨中 IL-1 β , TNF- α , MMP1, MMP3, MMP13 及 TIMP1, TIMP2 阳性表达与中医经筋分型及证候分型的相互关系。方法:膝痹病手术患者 135 例,按经筋分型标准分为足阳明经筋组、足太阳经筋组、足少阳经筋组、足三阴经筋组,按证候分型分成风湿热痹组、风寒湿痹组、瘀血痹阻组、肝肾亏虚组,免疫组织化学法测定术中所取关节软骨 200 倍镜下 IL-1 β , TNF- α , MMP1, MMP3, MMP13 及 TIMP1, TIMP2 阳性表达。结果:各证型组各指标阳性表达差异有统计学意义 ($P<0.05$)。结论:膝痹病关节软骨中 IL-1 β , TNF- α , MMP1, MMP3, MMP13 及 TIMP1, TIMP2 阳性表达可以为经筋分型和证候分型提供参考依据。

[关键词] 膝骨关节炎;关节软骨;经筋分型;中医证型;金属基质蛋白酶;金属基质蛋白酶抑制剂

[中图分类号] R681.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2022)02-0036-04

Study on the Correlation between Related Factor Expression of Cartilage and Knee Bi-Disease's Articular Cartilage according to Syndrome and Meridian Musculatures Classification

HU Hua^{1△} LI Xiucheng¹ ZHOU Gang¹ ZHANG Huiqin¹ ZHOU Xianchen¹

¹ Yichang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yichang 443300, Hubei China.

Abstract Objective: To explore the correlation among TCM syndrome classification, meridian musculatures classification and positive expression of inflammatory factor and MMPs/TIMPs in articular cartilage of patients with knee osteoarthritis. **Methods:** 135 patients with osteoarthritis of the knee who underwent surgery were divided into Yang-Ming meridian musculatures group, Tai-Yang meridian musculatures group, Shao-Yang meridian musculatures group and San-Yin meridian musculatures group according to the standard of meridian musculatures classification, which also were divided into rheumatic heat arthralgia syndrome group, wind cold damp arthralgia syndrome group, liver-kidney deficiency syndrome group and blood stasis and arthralgia syndrome group according to standard of TCM syndrome types. The positive expression of IL-1 β , TNF- α , MMP1, MMP3, MMP13, TIMP1 and TIMP2 in articular cartilage were detected by immune-histochemical staining under $\times 200$ microscope. **Results:** The difference of positive expression of each index in each syndrome type groups had statistically significant differences. **Conclusion:** The positive expression of IL-1 β , TNF- α , MMP1, MMP3, MMP13, TIMP1 and TIMP2 in the articular cartilage of patients with knee osteoarthritis can be used as the reference basis for the macroscopic syndrome differentiation of TCM and meridian musculatures classification.

Keywords: knee osteoarthritis; articular cartilage; TCM meridian musculatures; TCM syndrome type; matrix metalloproteinase; tissue inhibitor of metalloproteinas

膝骨关节炎(Knee Osteoarthritis, KOA)在祖国医学中称为“膝痹病”,在长期的中医药临床实践中,逐步

基金项目:2019 年湖北省自然科学基金面上项目(2019CFB560)

2019 年宜昌市卫生科研课题(A19-301-45)

¹ 湖北宜昌市中医院(湖北 宜昌,443300)

△通信作者 E-mail:orthochinahu@163.com

形成以“藏象学”为基础的“证候分型论治”和以“经筋学”为理论基础的“经筋分型论治”两个相对独立的辨证论治体系,指导着中医临床治疗^[1-2]。现代医学研究证实,KOA 病程中白介素 1 β (Interleukin, IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)^[3]、基质金属蛋白酶系 (Matrix Metalloproteinases, MMPs) 和金属蛋白酶组织抑制剂 (Tissue Inhibitors

of Metalloproteinases, TIMP)^[4] 出现特异性变化。

本研究选取 IL-1 β 、TNF- α 、MMP1、MMP3、MMP13、TIMP1、TIMP2 为观测指标,探索观测指标与膝痹病经筋辨证分型和证候辨证分型之间的相互关系。

1 研究对象和方法

1.1 研究对象

2018年1月至2021年1月共收集本院骨科住院患者,确诊为膝痹病并行关节镜手术或者关节置换手术共135例,手术治疗前针对拟收集术中患者失去功能且完全剥脱的关节软骨,在术前谈话中明确告知每名患者及家属,并签署知情同意书,同时获本院伦理委员会批准。

1.2 诊断标准

1.2.1 西医诊断标准 1)前1个月内有膝痛;2)X线提示膝关节边缘骨赘;3)实验室检查结果符合骨性关节炎;4)年龄 $\geqslant 40$ 岁;5)晨僵 <30 min;6)关节活动时有骨响声。满足1)2)或1)3)5)6)或1)4)5)6)即可确诊。

1.2.2 中医分型标准

1.2.2.1 经筋辨证分型诊断标准 结筋病灶点探查：
采用手触诊查法，按《经筋理论与临床疼痛诊疗学》^[5]中所论定的各经筋结筋病灶点，按经筋结筋点进行经筋分型。

1.2.2.2 证候辨证分型诊断标准 综合参考《中药新药临床研究指导原则》^[6]、《膝痹病(膝关节骨性关节炎)诊疗方案》及李文顺等^[7]的临床研究,进行证候分型。

1.3 纳入标准

符合西医诊断标准，同时严格按照中医经筋分型诊断标准分组及证候分型诊断标准分型。

1.4 排除标准

不符合骨性关节炎中西医诊断及分型标准者；膝关节肿瘤、结核、骨髓炎患者；合并其他系统严重疾病及精神病患者；研究者认为不宜参加临床试验者。

1.5 方法

1.5.1 试剂与仪器 IL-1 β 、TNF- α 、MMP1、MMP3、MMP13、TIMP1 及 TIMP2 抗体购自 Elabscience Biotechnology 公司。实验用其他仪器来自三峡大学医学实验中心。

1.5.2 免疫组织化学法 用链霉素抗生物素蛋白-生物素免疫染色法(S-P 法)进行实验。

1.6 统计学方法

数据应用 SPSS 20.0 统计学软件分析,计数资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,显微镜下(10×20 倍)取 3 个不同视野中免疫组织化学法反应阳性细胞数所占细胞总数的百分率作为原始统计数据,计数资料用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

入组 135 例患者性别及年龄等一般资料经统计学处理, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 具有可比性, 见表 1。

2.2 观察指标比较

实验各组 IL-1 β 、TNF- α 、MMP1、MMP3、MMP13、TIMP1 及 TIMP2 阳性细胞数比较见表 2 表 3。

表 1 一般资料统计结果($\bar{x} \pm s$)

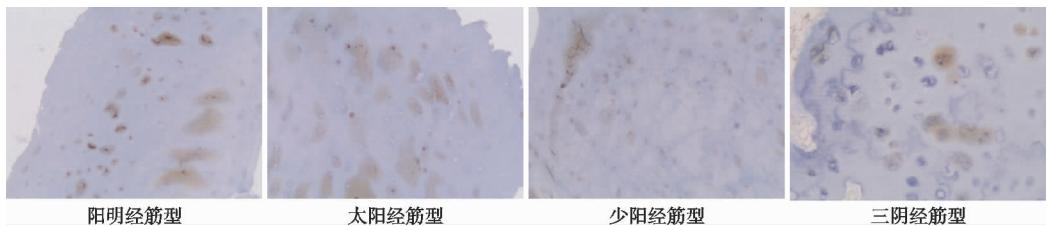
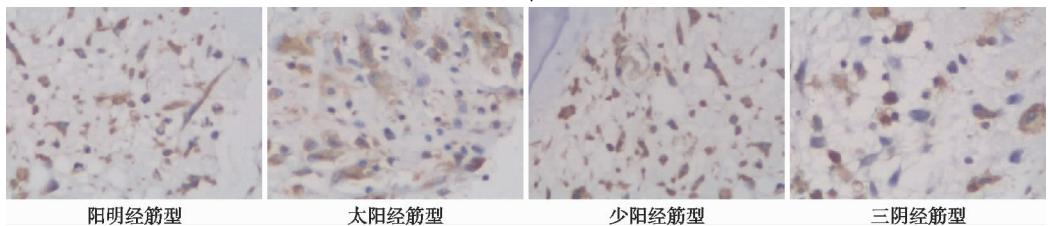
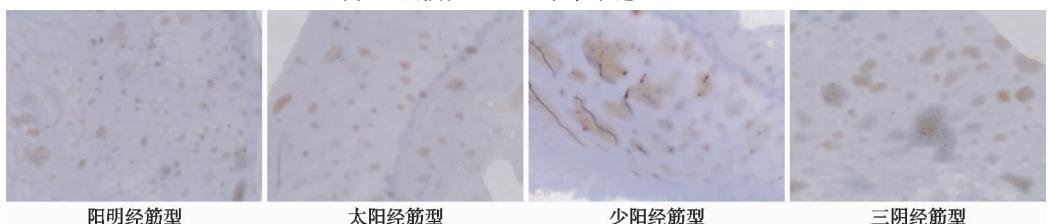
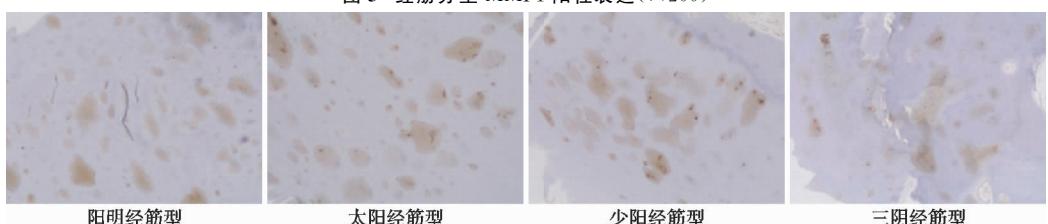
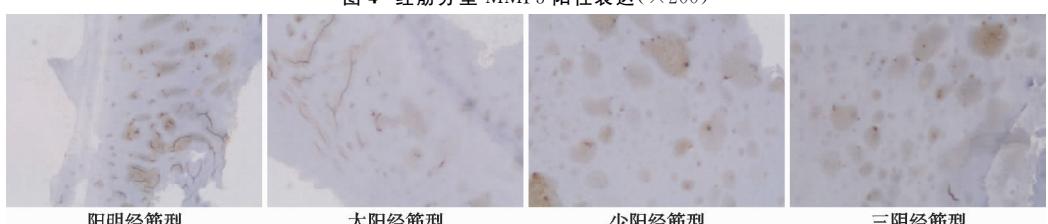
组别	经筋分组				分组	证候分组			
	例数/例	男/例	女/例	年龄/岁		例数/例	男/例	女/例	年龄/岁
阳明经筋	34	15	19	64.9±6.82	风湿热痹	36	16	20	65.1±5.54
太阳经筋	35	15	20	67.9±5.87	风寒湿痹	30	15	15	66.0±5.43
少阳经筋	30	13	17	65.9±5.73	瘀血痹阻	30	12	18	66.7±5.93
三阴经筋	36	15	21	67.7±5.93	肝肾亏虚	39	14	25	68.5±7.10
F	0.015		1.929			1.200		2.089	
P	0.998		0.128			0.312		0.105	

表 2 经筋分型各组阳性细胞数统计 ($\bar{x} \pm s$)

表 3 脏腑辨证分型各组各指标阳性细胞表达($\bar{x} \pm s$)

组别	例数 /例	IL-1 β	TNF- α	MMP1	MMP3	MMP13	TIMP1	TIMP2
风湿热痹	36	54.17±20.34	82.22±11.49	52.92±18.53	64.31±18.48	75.28±19.05	20.28±8.45	38.33±19.64
风寒湿痹	30	47.17±13.75	68.33±16.62	45.67±16.54	49.50±18.86	60.67±23.18	36.00±9.86	46.83±17.24
瘀血痹阻	30	36.50±6.84	59.33±8.28	35.33±13.06	40.00±11.14	49.00±12.42	44.00±8.55	63.67±16.50
肝肾亏虚	39	29.74±16.24	54.10±12.92	26.67±11.32	31.03±16.51	38.72±22.73	55.64±19.57	72.82±13.76
F		23.22	40.99	21.35	26.82	22.61	48.72	31.16
P		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

实验各经筋组 IL-1 β 、TNF- α 、MMP1、MMP3、MMP13、TIMP1 及 TIMP2 阳性表达见图 1-图 7。

图 1 经筋分型 IL-1 β 阳性表达($\times 200$)图 2 经筋分型 TNF- α 阳性表达($\times 200$)图 3 经筋分型 MMP1 阳性表达($\times 200$)图 4 经筋分型 MMP3 阳性表达($\times 200$)图 5 经筋分型 MMP13 阳性表达($\times 200$)

3 讨论

3.1 测定指标对膝痹病发病分子机制的指导意义

在 KOA 的早期,炎症因子白细胞介素(以 IL-1 β 为代表)等激活 TNF- α 等,刺激 MMPs 导致软骨基质

的降解,引起关节软骨细胞损伤^[8-9]。在 KOA 的早期和中期,MMP1、MMP3、MMP13 引起不同部位软骨基质降解^[10-12],同时也出现软骨修复。在 KOA 的中期和晚期,TIMP1、TIMP2 表达增强,深层出现软骨化

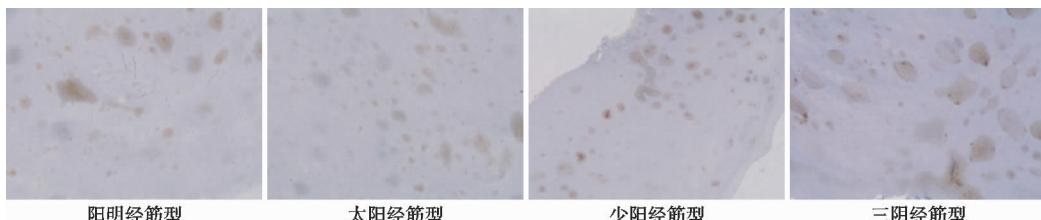


图 6 经筋分型 TIMP1 阳性表达(×200)

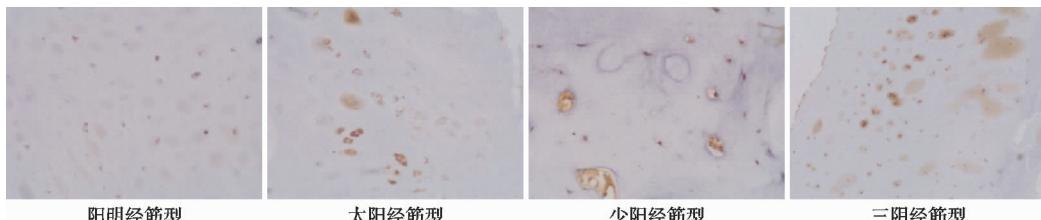


图 7 经筋分型 TIMP2 阳性表达(×200)

骨^[13-14]。本研究选择 IL-1 β 、TNF- α 、MMP1、MMP3、MMP13、TIMP1 及 TIMP2 作为观察指标, 覆盖了 KOA 早中晚三期, 能反映膝痹病软骨基质降解的基本情况。

3.2 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-1、MMP-3、MMP-13、TIMP-1 及 TIMP-2 与膝痹病经筋分型的关系

本研究中 IL-1 β 、TNF- α 、MMP1、MMP3、MMP13 按照阳明经筋型、太阳经筋型、少阳经筋型、三阴经筋型顺序递减, TIMP1 及 TIMP2 按照以上经筋分型顺序递增。膝痹病早期, IL-1 β 、TNF- α 表达增强, 阳明经筋型居多。仲卫红等^[15-16]发现经筋推拿配合温针以及易筋经训练治疗可能更好地抑制 KOA 早期炎性因子 IL-1 β 、TNF- α 的表达, 改善 KOA 早期症状。膝痹病中期, MMP1、MMP3、MMP13 表达增强, 临床以太阳经筋型及少阳经筋型居多。陈波等^[17]认为推拿的压力刺激对筋膜组织细胞 MMP3 等合成释放有抑制性调节作用, 可能是推拿按摩治疗膝痹病中期“舒筋散结”生物力学机制之一。膝痹病中晚期 TIMP1 及 TIMP2 表达增强, 病变趋于修复, 临床三阴经筋型居多。黄怡然等^[18]发现治疗晚期 KOA, 针刀组与模型组相比, TIMP1 的基因和蛋白表达水平升高。

3.3 IL-1 β 、TNF- α 、MMP1、MMP3、MMP13、TIMP1 及 TIMP2 与膝痹病证候分型的关系

本研究中 IL-1 β 、TNF- α 、MMP1、MMP3、MMP13 按照风湿热痹证、风寒湿痹证、瘀血痹阻证、肝肾亏虚证顺序递减, TIMP1 及 TIMP2 按照以上证候分型顺序递增。杨烨晗等^[19]研究痛风关节炎中医证型发现, 细胞因子 IL-1 β 方面, 湿热蕴结证>湿热夹瘀证>瘀瘀阻滞证>肝肾亏虚证; TNF- α 方面, 湿热蕴结证>湿热夹瘀证>肝肾亏虚证>瘀瘀阻滞证, 总体趋势与本研究相同。赵晓林等^[20]研究发现 KOA 术后中医证型的变化与 IL-1 β 和 TNF- α 密切相关。侯亚平^[21]研究发现 KOA 患者中阳虚寒凝型 MMP13、IL-1 β 、

TNF- α 水平明显高于肾虚髓亏型及瘀血阻滞型, TIMP1 水平明显低于肾虚髓亏型及瘀血阻滞型。以上研究均与本研究结果相吻合。

3.4 膝痹病经筋分型和脏腑辨证分型结合对临床的指导意义

将经筋分型和证候分型结合起来可以更好地指导中医临床用药、施针、针刀、推拿按摩甚至手术治疗。杨勇等^[22]发现胫骨内侧高位截骨术后滑液中炎性因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 以及软骨降解因子 MMP3、MMP9 含量显著低于术前, 从而延缓软骨损伤。通过本研究发现, IL-1 β 、TNF- α 、MMP1、MMP3、MMP13、TIMP1 及 TIMP2 从现代分子水平将膝痹病经筋分型和证候分型联系起来, 为膝痹病中医分型提供了试验数据, 也可以为疾病分期提供参考。

为了探索经筋分型和脏腑辨证分型之间的关系, 对每个患者的经筋分型和证候分型做了简化, 研究结果和临床实际有一定的差距。对于经筋分型和证候分型关系在理论上进行探索, 本研究只是做了一下尝试, 样本量明显不足, 其内容有待于进一步丰富。

参考文献

- [1] 黄彬洋, 刘晓瑞, 张姗姗, 等. 基于肝脾肾三脏的“脏-经筋-穴”整体观合论膝骨关节炎[J]. 中医临床研究, 2018, 10(19):47-49.
- [2] 陈海, 冯康虎, 陈志伟, 等. 基于中医肝肾二脏的膝骨关节炎研究述评[J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(1):142-144.
- [3] 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.
- [4] 范重山, 孙明帅, 韩文朝. 促炎因子及基质金属蛋白酶在骨关节炎发病机制及相关治疗中的地位和作用[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(32):5162-5170.