

藤黄健骨片治疗肾虚血瘀型膝骨关节炎大鼠的实验研究

程龙¹ 李志浩¹ 岳宗进² 王献印^{3△}

[摘要] 目的:观察藤黄健骨片对肾虚血瘀型膝骨关节炎(KOA)大鼠的软骨保护作用,探讨其作用机制。方法:采用去卵巢、激素和肾上腺素联合注射、木瓜蛋白酶和 L-半胱氨酸关节腔内注射等复合因素法构建肾虚血瘀型膝骨关节炎大鼠模型,随机分组($n=8$):假手术组、模型组、藤黄健骨片高剂量组(1.00 g/kg)、藤黄健骨片低剂量组(0.50 g/kg)、阳性组(双醋瑞因 0.05 g/kg)。灌胃给药 6 周,于给药前后观察并记录各组大鼠的整体体征,采用改良奎森功能障碍指数(Lequesne MG 评分)评价膝关节功能;给药后 ELISA 法检测血清白细胞介素 1 β (IL-1 β)、转化生长因子 β (TGF- β)水平,番红 O-固绿染色法观察关节软骨和软骨下骨组织病理变化并进行国际骨关节炎研究学会(OARSI)软骨退变评分,免疫组化法检测关节软骨中基质金属蛋白酶 13(MMP-13)、II 型胶原(C II)阳性表达。结果:模型大鼠表现出典型的肾虚血瘀证候,Lequesne MG 评分均 ≥ 6 分;与模型组比较,藤黄健骨片高、低剂量组 Lequesne MG 评分显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$),藤黄健骨片高剂量组 Lequesne MG 评分显著低于低剂量组,差异有统计学意义($P<0.01$)。藤黄健骨片高、低剂量组在关节软骨表层平整度、软骨细胞排列、软骨下骨组织结构破坏等病变方面均有所改善,OARSI 软骨退变分级明显优于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,藤黄健骨片高、低剂量组血清 IL-1 β 水平明显降低,TGF- β 水平明显增高,差异有统计学意义($P<0.01$);藤黄健骨片高剂量组血清 IL-1 β 水平显著低于低剂量组,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较,藤黄健骨片高、低剂量组明显抑制关节软骨 MMP-13 阳性表达,差异有统计学意义($P<0.01$),显著增强 C II 阳性表达,差异有统计学意义($P<0.01$)。结论:藤黄健骨片可明显改善肾虚血瘀型膝骨关节炎大鼠的整体体征和膝关节症状、保护关节软骨,与纠正 IL-1 β 和 TGF- β 等细胞因子的表达失衡、抑制软骨 MMP-13 表达并增强 C II 表达、减少软骨细胞和细胞外基质的降解等功能有关。

[关键词] 藤黄健骨片;膝骨关节炎;肾虚血瘀证;软骨保护

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2025)07-0007-05

DOI: 10.20085/j.cnki.issn1005-0205.250702

Experimental Study of Tenghuangjiangu Tablet on Knee Osteoarthritis with Kidney Deficiency and Blood Stasis Syndrome in Rats

CHENG Long¹ LI Zhihao¹ YUE Zongjin² WANG Xianyin^{3△}

¹ College of Orthopedics and Traumatology, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China;

² Henan Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450011, China;

³ Chinese Medicine Hospital of Puyang, Puyang 457399, Henan China.

Abstract Objective: To investigate the cartilage-protective effects of Tenghuangjiangu tablet (TT) in rats with knee osteoarthritis characterized by syndrome of kidney deficiency and blood stasis (KOA-KDBS), and to understand its mechanism of action. **Methods:** A rat model of KOA-KDBS was created using a combination of methods including ovariectomy, co-injection of hormones and epinephrine, and intra-articular injections of papain and L-cysteine. The rats were randomly assigned to different groups ($n=8$): sham-operated group, model group, high-dose TT group (1.00 g/kg), low-

基金项目:河南省中医药科学研究专项课题(2021JDZX2074, 20-21ZY2293)

¹ 河南中医药大学骨伤学院(郑州,450046)

² 河南省中医院

³ 濮阳市中医院

[△]通信作者 E-mail:wangxy728@sina.com

dose TT group (0.50 g/kg), and positive control group (diacerein 0.05 g/kg). The overall signs of the rats in each group was monitored and recorded, knee joint function was assessed using the modified Lequesne MG score before and after the treatment. After 6 weeks of treatment, serum levels of IL-1 β and TGF- β were measured using the ELISA method, the articular cartilage and subchondral bone tissues were examined using the safranin O-fast green staining technique, pathological changes in the articular cartilage and subchondral bone were evaluated using the OARSI score, and the expression of MMP-13 and collagen type II (C II) in the articular cartilage was analyzed through immunohistochemistry. **Results:** The model rats exhibited typical symptoms of KOA-KDBS, with Lequesne MG scores all at or above 6. When compared to the model group, the Lequesne MG scores for the TT high and low dosage groups were significantly lower ($P < 0.01$), with the high dosage group showing a significantly greater reduction than the low dosage group ($P < 0.01$). Both dosage groups demonstrated improvements in the flatness of the articular cartilage surface, arrangement of chondrocytes, and the integrity of subchondral bone tissue structure, with OARSI scores significantly better than that of the model group ($P < 0.05$). Additionally, the serum IL-1 β levels in both dosage groups of TT were significantly reduced compared to the model group, while TGF- β levels increased significantly ($P < 0.01$); the high dosage group had a significantly lower IL-1 β level than the low dosage group ($P < 0.05$). Both dosage groups also significantly inhibited the positive expression of MMP-13 in articular cartilage ($P < 0.01$) and significantly enhanced the positive expression of C II ($P < 0.01$) compared to the model group. **Conclusion:** TT effectively improve overall signs and knee joint symptoms while protecting the articular cartilage in KOA-KDBS rats. This effect is associated with the correction of cytokine expression imbalances, specifically IL-1 β and TGF- β , the inhibition of cartilage MMP-13 expression, the enhancement of C II expression, and a reduction in chondrocyte and extracellular matrix degradation.

Keywords: tenghuangjiangu tablet; knee osteoarthritis; syndrome of kidney deficiency and blood stasis; cartilage protection

膝骨关节炎(Knee Osteoarthritis, KOA)是常见的关节退行性疾病,我国症状性膝骨关节炎患病人数超过1亿^[1],目前临床尚缺乏理想的治疗手段。中医学强调辨证论治、整体调节,在膝骨关节炎诊疗方面具有得天独厚的优势,认为该病基本病机为肾虚血瘀^[2]。藤黄健骨片源自国医大师刘柏龄教授的经验方“骨质增生丸”,临床和实验研究显示其具有补肾活血、化瘀止痛等功效^[3-6],但作用机制尚不明确。本研究通过构建肾虚血瘀型膝骨关节炎大鼠模型,探讨藤黄健骨片对关节软骨的保护作用,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康无特定病原体(SPF)级SD大鼠,雌性,体重为(180 \pm 10)g,由河北赛业(固安)生物科技有限公司提供,许可证号为SCXK(冀)2021-003;置于动物房屏障环境,自由摄食、饮水。实验动物相关操作严格遵循河南中医药大学伦理委员会规定。

1.2 药物和试剂

藤黄健骨片,规格为0.5 g/片,批号为230506,湖南方盛制药股份有限公司产品,药片碾碎后以0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)配制。双醋瑞因胶囊(商品名为安必丁,规格为50 mg/粒),阿根廷 TRB Pharma S. A. 公司产品,以0.5% CMC-Na 配制。氢化可的松注射液(规格为5 mg/mL),国药集团容生制药有限公司产品。盐酸肾上腺素注射液(商品名为利舒安,规格为

1 mg/mL),远大医药(中国)有限公司产品。木瓜蛋白酶、L-半胱氨酸,均为美国 Sigma-Aldrich 公司产品。10%甲醛固定液、乙二胺四乙酸(EDTA)脱钙液、番红 O-固绿(Safranin O-fast Green, SO-FG)软骨染色试剂盒,均为北京索莱宝科技有限公司产品。大鼠白细胞介素 1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、转化生长因子 β (Transforming Growth Factor- β , TGF- β)酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒,均为上海雅吉生物科技有限公司产品。免疫组织化学(SP法)试剂盒、基质金属蛋白酶 13(Matrix Metalloproteinase-13, MMP-13)抗体、II型胶原(type II collagen, C II)抗体,均为武汉博士德生物工程有限公司产品。

1.3 仪器设备

高速冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司产品。超低温冰箱,海尔智家股份有限公司产品。石蜡包埋机、组织切片机,均为德国 Medite 公司产品。光学显微镜,日本 Carton 光学株式会社产品。酶联免疫检测仪,美国 Bio-Rad 公司产品。病理图像分析系统,武汉千屏影像技术有限责任公司产品。

1.4 方法

1.4.1 肾虚血瘀型膝骨关节炎模型的建立 采用去卵巢、激素和肾上腺素联合注射、木瓜蛋白酶和 L-半胱氨酸关节腔内注射等复合因素法造模^[7]。1)肾虚证候:将大鼠麻醉,腰背部常规备皮、消毒,切开皮肤及筋膜,结扎输卵管和周围血管后,摘除双侧卵巢,常规止

血、缝合、抗感染处理。2) 膝骨关节炎: 第 3 周时, 于大鼠双侧膝关节腔内各注射 4% 木瓜蛋白酶和 0.3 mol/L L-半胱氨酸(2:1 混合) 50 μ L, 每周注射时间点均为第 1, 3, 5 天, 持续 4 周。3) 血瘀证候: 第 4 周时, 每天予肌肉注射氢化可的松 10 mg/kg, 持续 2 周后皮下注射 0.6 mg/kg 肾上腺素 1 次。

造模大鼠除符合肾虚血瘀证典型体征外, 其膝关节的改良奎森功能障碍指数(Lequesne MG 评分) ≥ 6 分, 则视为模型构建成功。

1.4.2 分组和治疗 将模型大鼠随机分为 4 组($n=8$): 模型组(等体积 0.5% CMC-Na), 藤黄健骨片高、低剂量组(按人体表面积换算成大鼠等效剂量, 分别为 1.00, 0.50 g/kg), 阳性组(双醋瑞因 0.05 mg/kg)^[8]。另取未造模的大鼠 8 只, 仅打开腹膜不摘除卵巢, 膝关节腔内注射生理盐水, 作为假手术组(等体积 0.5% CMC-Na)。各组灌胃给药, 1 次/d, 持续 6 周。

1.4.3 整体体征观察 造模后及给药期间, 参照中医证候动物模型评价方法^[9], 每日观察大鼠的整体体征, 包括形体皮毛、活动度、饮食、精神状态、尾色、舌质等。

1.4.4 膝关节功能评价 分别于给药前后, 采用改良 Lequesne MG 评分法^[10]对各组大鼠的膝关节功能进行评价, 观察项目包含膝关节肿胀度(2 分)、局部疼痛刺激(3 分)、步态(3 分)、膝关节活动范围(3 分)。总分 11 分, 评分越高症状越重。

1.4.5 血清细胞因子水平 末次给药后, 各组大鼠空腹 12 h, 大鼠麻醉后自腹主动脉采血, 4 $^{\circ}$ C 下静置 1 h, 3 500 r/min 低温离心 15 min, 收集血清。行 ELISA 试验, 加样于 96 孔板, 上酶联免疫检测仪, 450 nm 波长处测定吸光度值, 根据标准曲线回归方程计算血清 IL-1 β 、TGF- β 水平。

1.4.6 膝关节组织病理变化 将大鼠处死后, 取双侧膝关节胫骨平台, 分离软骨和软骨下骨组织, 置于 10% 甲醛液固定 48 h, 移至 EDTA 液中脱钙, 之后行梯度脱水、浸蜡、包埋, 关节矢状面切片(厚度约 5 μ mol/L), 采用 SO-FG 染色, 树脂封片。光学显微镜下观察组织病理变化, 参照国际骨关节炎研究学会(OARSI)评分系统^[11]对软骨缺损范围和深度、软骨细胞排列情况、软骨下骨组织破坏程度进行分级评价, 分级越高膝关节软骨退变越严重。

1.4.7 关节软骨 MMP-13 和 C II 阳性表达 取制备的膝关节软骨和软骨下骨组织切片, 行 SP 法免疫组化试验, 将切片脱蜡水化、修复抗原, 加入 MMP-13 和 C II 一抗孵育过夜, 添加二抗孵育, 显色剂显色, 清洗后脱水、透明、封片; 阴性对照用 PBS 缓冲液代替一抗。采用病理图像分析系统拍摄并处理图片, 以积分光密度值表示关节软骨 MMP-13 和 C II 的阳

性表达。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件处理数据, 组间比较行秩和检验; 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示, 多组间行单因素方差分析, 两两比较行 SNK 检验; $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 藤黄健骨片对肾虚血瘀型膝骨关节炎大鼠整体体征的影响

假手术组大鼠皮毛有光泽, 饮食、活动、精神状态等表现正常。模型组大鼠表现出明显的精神萎靡、弓背少动、皮毛蓬乱粗糙、摄食减少、便溏、舌质紫黯、尾部和爪甲瘀青等症状, 造模后期形体逐渐消瘦, 关节肿胀且有明显舔舐及跛行现象。藤黄健骨片高、低剂量组及阳性组大鼠上述体征及关节症状均有不同程度的改善。

2.2 藤黄健骨片对肾虚血瘀型膝骨关节炎大鼠膝关节功能评分的影响

假手术组大鼠 Lequesne MG 评分极低, 膝关节功能基本不受影响; 给药前每只造模大鼠的 Lequesne MG 评分均 ≥ 6 分。给药后, 各治疗组 Lequesne MG 评分较模型组显著降低, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 藤黄健骨片高剂量组 Lequesne MG 评分较低剂量组显著降低, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 见表 1。

表 1 各组大鼠膝关节功能评分比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	Lequesne MG 评分	
		给药前/分	给药后/分
假手术组		1.13 ± 0.35	0.88 ± 0.35
模型组		8.75 ± 0.71 ¹⁾	7.38 ± 0.74 ¹⁾
藤黄健骨片低剂量组	0.50	8.63 ± 1.06	4.75 ± 1.04 ²⁾
藤黄健骨片高剂量组	1.00	9.00 ± 1.07	3.25 ± 0.71 ²⁾³⁾
阳性组	0.05	8.88 ± 0.64	3.85 ± 0.83 ²⁾

注: 1) 与假手术组比较, $P < 0.01$; 2) 与模型组比较, $P < 0.01$; 3) 与藤黄健骨片低剂量组比较, $P < 0.01$ 。

2.3 藤黄健骨片对肾虚血瘀型膝骨关节炎大鼠膝关节组织病理学的影响

假手术组大鼠膝关节软骨表层平整、光滑, 无病理性结构改变。模型组大鼠软骨表层粗糙, 番红着色不均匀, 有裂隙生成并延伸至辐射层, 可见软骨缺损和退化、软骨细胞排列不规则、软骨下骨组织破坏和骨质增生现象。藤黄健骨片高、低剂量组大鼠及阳性组大鼠在关节软骨表层平整度、软骨细胞排列、软骨下骨组织结构破坏等方面均有不同程度的改善。OARSI 评分结果显示, 模型组大鼠关节软骨退变分级均为 2 或 3 级, 各给药组大鼠 OARSI 分级较模型组均有显著改善, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见图 1 及表 2。

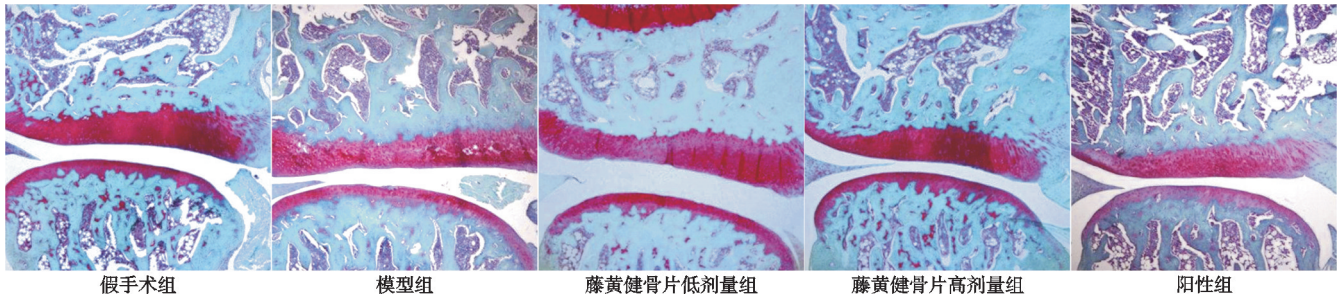


图 1 各组大鼠膝关节组织病理学检查结果(SO-FG, $\times 100$)

表 2 各组大鼠膝关节软骨退变分级比较($n=8$)

组别	剂量/ ($g \cdot kg^{-1}$)	OARSI 分级			
		0	1	2	3
假手术组		8	0	0	0
模型组		0	0	3	5
藤黄健骨片低剂量组	0.50	0	2	5	1 ¹⁾
藤黄健骨片高剂量组	1.00	0	2	6	0 ¹⁾
阳性组	0.05	0	3	4	1 ¹⁾

注:1)与模型组比较, $P < 0.05$ 。

2.4 藤黄健骨片对肾虚血瘀型膝骨关节炎大鼠血清细胞因子表达的影响

与假手术组比较,模型组大鼠血清 IL-1 β 、TGF- β

水平均明显增高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,藤黄健骨片高、低剂量组大鼠血清 IL-1 β 水平明显降低, TGF- β 水平明显增高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与藤黄健骨片低剂量组大鼠比较,高剂量组大鼠血清 IL-1 β 水平明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。阳性组药双醋瑞因可使大鼠血清 IL-1 β 、TGF- β 表达显著低于藤黄健骨片高、低剂量组,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 3。

2.5 藤黄健骨片对肾虚血瘀型膝骨关节炎大鼠关节软骨 MMP-13 及 C II 阳性表达的影响

与假手术组比较,模型组大鼠关节软骨细胞

表 3 各组大鼠血清细胞因子水平比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/($g \cdot kg^{-1}$)	IL-1 β /($pg \cdot mL^{-1}$)	TGF- β /($pg \cdot mL^{-1}$)
假手术组		19.02 \pm 5.09	12.73 \pm 4.52
模型组		343.05 \pm 65.79 ¹⁾	115.98 \pm 31.94 ¹⁾
藤黄健骨片低剂量组	0.50	215.83 \pm 40.53 ²⁾³⁾	245.41 \pm 53.01 ²⁾³⁾
藤黄健骨片高剂量组	1.00	156.70 \pm 30.27 ²⁾³⁾⁴⁾	290.92 \pm 44.09 ²⁾³⁾
阳性组	0.05	66.41 \pm 15.81 ²⁾	170.83 \pm 40.61 ⁵⁾

注:1)与假手术组比较, $P < 0.01$;与模型组比较,2) $P < 0.01$,5) $P < 0.05$;3)与阳性组比较, $P < 0.01$;4)与藤黄健骨片低剂量组比较, $P < 0.05$ 。

MMP-13 阳性表达明显上调, C II 阳性表达则显著下调,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,藤黄健骨片高、低剂量组大鼠明显抑制关节软骨 MMP-13 阳性表达,差异有统计学意义($P < 0.01$),显著增强 C II 阳性表达,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 4。

表 4 各组大鼠关节软骨 MMP-13 及 C II 阳性表达比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ ($g \cdot kg^{-1}$)	MMP-13	C II
假手术组		1.49 \pm 0.23	9.03 \pm 1.39
模型组		4.85 \pm 0.82 ¹⁾	2.68 \pm 0.37 ¹⁾
藤黄健骨片低剂量组	0.50	3.34 \pm 0.73 ²⁾	8.41 \pm 1.26 ²⁾
藤黄健骨片高剂量组	1.00	2.86 \pm 0.39 ²⁾	9.18 \pm 1.78 ²⁾
阳性组	0.05	3.01 \pm 0.38 ²⁾	9.40 \pm 2.06 ²⁾

注:1)与假手术组比较, $P < 0.01$;2)与模型组比较, $P < 0.01$ 。

3 讨论

中医学认为膝骨关节炎属于“骨痹”“膝痹”等范畴,多因风寒湿等外邪凝滞于肢体筋脉、关节,气血运行不畅,经络痹阻不通,筋骨失于濡养,致胫软乏力、关

节肿痛、活动不利,久之软骨退变、关节变形。肾虚血瘀型膝骨关节炎患者则因肾精亏虚、正气不足,常伴有神疲倦怠、形体消瘦、畏寒恶风、皮肤瘀斑、苔薄舌黯等症状^[2]。这与现代医学的膝骨关节炎骨内静脉瘀滞学说有相通之处,该学说认为骨内静脉瘀滞可引起软骨细胞营养障碍进而坏死,是诱发膝骨关节炎的重要原因^[12]。本研究采用去卵巢、激素和肾上腺素联合注射、木瓜蛋白酶和 L-半胱氨酸关节腔内注射等复合因素法造模,可见模型大鼠的体征表现基本符合肾虚血瘀的证候特征,结合膝关节 Lequesne MG 评分、关节软组织病理学及 OARSI 分级结果,提示该模型能够一定程度上模拟肾虚血瘀型膝骨关节炎的疾病状态。

针对肾虚血瘀型膝骨关节炎内因和外因相互作用的病因病机特点,治宜内扶正、外祛邪。藤黄健骨片为骨痹常用中成药,方中熟地黄益精填髓、补血滋阴,肉苁蓉补肾阳、益肾精、壮筋骨,共为君药;一臣鹿衔草补虚益肾、祛风止痛,二臣淫羊藿补肾阳、强腰膝、祛风除湿,三臣骨碎补补肾强骨、活血续伤,共助君药补肾虚、

强筋骨;鸡血藤活血通脉、舒筋活络,作为佐药;莱菔子为使药,消食除胀,利气化痰,使补益诸品无阻碍气机之弊;诸药合用,共奏补肾填精、活血通络之功。临床研究显示,藤黄健骨片口服用于肝肾不足、筋脉瘀滞型膝骨关节炎疗效确切,可降低血清炎症因子 IL-1 β 、MMP-1 表达水平,减轻患者体内炎症反应,促进关节功能恢复^[13]。本研究结果表明,藤黄健骨片既可显著改善膝骨关节炎大鼠肾虚血瘀证的整体体征,亦能明显缓解膝关节相关症状及关节软骨的病理性退变,达到标本兼治的目的。

膝骨关节炎最基本的病理改变是关节软骨的退变,软骨细胞和细胞外基质的降解则是软骨退变的重要方面。正常情况下,软骨细胞合成 C II 等物质分泌到细胞外基质中,构成支持与保护网架,共同维持关节软骨的形态、结构和功能;膝骨关节炎发病时,软骨细胞和滑膜细胞在多种因素刺激下分泌大量基质金属蛋白酶(MMPs),造成软骨细胞和细胞外基质的降解失衡,导致关节软骨的破坏^[14]。MMP-13 作为 MMPs 成员之一可降解软骨细胞外基质中含量最丰富的 C II,还能促进关节软骨微环境的炎症反应,被视为膝骨关节炎软骨病变的标志性蛋白酶;开发 MMP-13 抑制剂是目前膝骨关节炎治疗策略的一个关键方向^[15]。本研究结果显示,模型组大鼠关节软骨细胞 MMP-13 阳性表达明显上调、C II 阳性表达显著下调。杨程等^[7]研究表明,肾虚血瘀证能加重膝骨关节炎膝关节炎炎症反应和软骨细胞外基质降解,膝骨关节炎大鼠软骨组织 MMP-13 表达显著升高、C II 表达显著下降,这与本研究结果一致。藤黄健骨片高、低剂量可明显抑制关节软骨 MMP-13 阳性表达,显著增强 C II 阳性表达,提示藤黄健骨片通过改善肾虚血瘀证候,减少软骨细胞和细胞外基质的降解,干预肾虚血瘀型膝骨关节炎大鼠的软骨退变进程。

分解性/合成性细胞因子在软骨细胞和细胞外基质的代谢平衡中同样发挥着至关重要的作用。分解性细胞因子(如 IL-1 β)是导致软骨功能衰退最具影响力的促炎因子,不仅可介导炎症级联反应,破坏软骨细胞微环境,还能刺激软骨细胞和滑膜细胞分泌多种 MMPs,促进细胞外基质的降解^[16]。有研究表明,膝骨关节炎患者关节软骨和滑膜组织中 IL-1 β 与 MMP-13 的表达正相关,二者与疾病严重程度关系密切^[17]。合成性细胞因子(如生长因子 TGF- β)可调控软骨细胞及细胞外基质的增殖与分化,对关节软骨发挥保护和修复作用;但在病理情况下,异常增高的 TGF- β 会诱发骨质增生,参与对关节微环境稳态的破坏^[18]。本研究结果显示,模型组大鼠血清 IL-1 β 和 TGF- β 水平均明显增高,这也验证了异常表达的 IL-1 β 和 TGF- β

直接参与膝骨关节炎病变进程的观点;藤黄健骨片高、低剂量可使血清 IL-1 β 水平明显降低、TGF- β 水平显著增高,提示藤黄健骨片通过纠正分解性/合成性细胞因子的表达失衡,缓解软骨细胞和细胞外基质的过度降解状态,维持膝骨关节炎关节微环境稳态,这也体现出中药复方多成分、多途径、多靶点的作用特点。本研究阳性对照选用双醋瑞因,该药作为 IL-1 β 抑制剂不仅能减轻炎症级联反应,还能抑制软骨降解、保护骨关节,属于临床常用的膝骨关节炎缓解病情药^[19]。

综上所述,藤黄健骨片用于肾虚血瘀型膝骨关节炎大鼠,可改善其肾虚血瘀证候和关节症状,通过纠正 IL-1 β 和 TGF- β 等分解性/合成性细胞因子的表达,抑制关节软骨 MMP-13 表达失衡并增强 C II 表达,以减少软骨细胞和细胞外基质的降解,达到软骨保护的目。鉴于膝骨关节炎发病机制的复杂性和中药复方作用靶点的多样性,藤黄健骨片的作用机制及量效关系仍需深入研究。

参考文献

- [1] 李慕聪,吴婵媛,冷晓梅.小症状,大负担:骨关节炎流行病学概述[J].中华临床免疫和变态反应杂志,2022,16(3):331.
- [2] 陈宇,胡小钰,罗泽红,等.基于肾虚血瘀理论探讨膝骨关节炎的发病机制[J].微量元素与健康研究,2023,40(2):85-86.
- [3] 沈枫,刘昆鹏,彭李华,等.藤黄健骨片治疗肾虚血瘀型膝骨关节炎临床疗效观察[J].中南药学,2019,17(2):291-293.
- [4] 朱克俭,黄敏,郭喜庚.藤黄健骨片对肾虚证和血瘀证动物模型的影响及其镇痛作用[J].中国中医药现代远程教育,2015,13(15):139-141.
- [5] 付宇,林崧崧,邓浩庆,等.藤黄健骨片对膝关节炎急性发作期模型大鼠骨代谢、行为学及 NF- κ B、ICAM-1 表达的影响[J].中国中医药科技,2022,29(2):195-199.
- [6] 朱克俭,黄敏,郭喜庚.藤黄健骨片对去势骨质疏松模型大鼠干预作用的实验研究[J].国医论坛,2015,30(6):57-60.
- [7] 杨程,李玉生,焦泓焯,等.肾虚血瘀型 SD 大鼠膝骨关节炎模型的建立与验证[J].中国组织工程研究,2024,28(27):4273-4280.
- [8] ABDEL-AZIZ M A, AHMED H M S, EL-NEKEETY A A, et al. Biosynthesis of gold nanoparticles for the treatment of osteoarthritis alone or in combination with Diacerein[®] in a rat model[J]. Inflammopharmacology, 2021, 29(3):705-719.
- [9] 国家中医药管理局.中医病证诊断疗效标准[M].南京:南京大学出版社,1994.
- [10] 王丽丽,徐腾腾,王潇潇,等.基于“病-证-症”结合研究策略探索膝骨关节炎大鼠湿热痹阻证的表征和特点[J].中国中药杂志,2025,50(7):1861-1871.

- Front Neurosci, 2017, 11: 340.
- [6] CHEN H, YANG J, TAN Z. Upregulation of microRNA-9-5p inhibits apoptosis of chondrocytes through downregulating TNC in mice with osteoarthritis following tibial plateau fracture[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(12): 23326-23336.
- [7] ZHANG G, ZHANG H, YOU W, et al. Therapeutic effect of resveratrol in the treatment of osteoarthritis via the MALAT1/miR-9/NF- κ B signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2020, 19(3): 2343-2352.
- [8] 乙军, 周业庭, 潘武, 等. 独活挥发油关节腔注射对实验性兔膝骨性关节炎的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2014, 2(20): 1670-1672.
- [9] LI F, YAO J, HAO Q, et al. miRNA-103 promotes chondrocyte apoptosis by down-regulation of Sphingosine kinase-1 and ameliorates PI3K/AKT pathway in osteoarthritis[J]. Biosci Rep, 2019, 39(10): BSR20191255.
- [10] LI J, HUANG J, DAI L, et al. miR-146a, an IL-1 β responsive miRNA, induces vascular endothelial growth factor and chondrocyte apoptosis by targeting Smad4[J]. Arthritis Res Ther, 2012, 14(2): R75.
- [11] WANG M, GAO Q, CHEN Y, et al. PAK4, a target of miR-9-5p, promotes cell proliferation and inhibits apoptosis in colorectal cancer[J]. Cell Mol Biol Lett, 2019, 24: 58.
- [12] WEI Y Q, JIAO X L, ZHANG S Y, et al. MiR-9-5p could promote angiogenesis and radiosensitivity in cervical cancer by targeting SOCS5[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(17): 7314-7326.
- [13] 张彦秋, 张永涛. miR-9 对骨性关节炎细胞凋亡的影响及与 protogenin 的靶向关系[J]. 广东医学, 2014, 35(21): 3313-3316.
- [14] HUANG Y, CHEN D, YAN Z, et al. LncRNA MEG3 protects chondrocytes from IL-1 β -induced inflammation via regulating miR-9-5p/KLF4 axis[J]. Front Physiol, 2021, 12: 617654.
- [15] ZHOU D, WEI Y, SHENG S, et al. MMP13-targeted siRNA-loaded micelles for diagnosis and treatment of posttraumatic osteoarthritis[J]. Bioact Mater, 2024, 37(2): 378-392.
- [16] VINCENTI M P, BRINCKERHOFF C E. Early response genes induced in chondrocytes stimulated with the inflammatory cytokine interleukin-1 β [J]. Arthritis Res, 2001, 3(6): 381-388.

(收稿日期: 2024-11-15)

(上接第 11 页)

- [11] LEE S H, KAO C C, LIANG H W, et al. Validity of the osteoarthritis research society international (OARSI) recommended performance-based tests of physical function in individuals with symptomatic Kellgren and Lawrence grade 0-2 knee osteoarthritis[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2022, 23(1): 1040.
- [12] AARON R K, RACINE J, DYKE J P. Contribution of circulatory disturbances in subchondral bone to the pathophysiology of osteoarthritis [J]. Curr Rheumatol Rep, 2017, 19(8): 49.
- [13] 刘兆丰, 王大斌, 李军. 藤黄健骨片联合常规西药对老年膝关节骨性关节炎(肝肾不足、筋脉瘀滞证)的作用[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(6): 1424-1427.
- [14] JIANG X, WANG Q, WANG C, et al. The association between genetic polymorphisms of matrix metalloproteinases and knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis[J]. Int J Rheum Dis, 2024, 27(3): e15123.
- [15] WANG Y. Novel drug discovery approaches for MMP-13 inhibitors in the treatment of osteoarthritis [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2024, 114: 130009.
- [16] 陈鹏宇, 叶超, 赵久丽, 等. 膝关节关节炎不同证候患者关节液白介素-1 β 浓度特点研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2024, 32(9): 26-30.
- [17] ZHAO Q H, LIN L P, GUO Y X, et al. Matrix metalloproteinase-13, NF- κ B p65 and interleukin-1 β are associated with the severity of knee osteoarthritis [J]. Exp Ther Med, 2020, 19(6): 3620-3626.
- [18] CHERIFI C, MONTEAGUDO S, LORIES R J. Promising targets for therapy of osteoarthritis: a review on the Wnt and TGF- β signalling pathways[J]. Ther Adv Musculoskelet Dis, 2021, 13: 1759720X211006959.
- [19] SHRESTHA R, TAMRAKAR S, KOJU P, et al. Investigating the efficacy and safety of diacerein in the management of knee osteoarthritis with reference to its conventional management[J]. J Nepal Health Res Council, 2023, 20(4): 942-946.

(收稿日期: 2025-01-13)