

牛膝总皂苷对实验兔膝关节炎滑膜组织的影响

余闾¹ 彭力平¹ 马笃军^{1△} 陈达¹ 王立新¹ 肖伟¹ 谭锐泉¹ 徐文铭¹

[摘要] 目的:观察牛膝总皂苷(TSA)对兔膝关节炎(OA)模型滑膜组织的影响。方法:将 40 只实验兔分为正常组 8 只、OA 模型组 32 只,OA 造模成功后将 OA 模型组分为 OA 模型阳性对照组、OA 模型空白组、OA 模型 TSA 低剂量组、OA 模型 TSA 中剂量组、OA 模型 TSA 高剂量组,各 6 只,分别予硫酸氨基葡萄糖、蒸馏水、TSA 低剂量、TSA 中剂量、TSA 高剂量灌胃 2 个月后进行关节粘连改善度测定、滑膜组织病理 HE 染色、滑膜炎 KRENN 评分、 β -catenin 蛋白免疫组化检测,及关节液 TNF-1, IL-1 β , MMP-3 含量检测。结果:实验兔 OA 模型造模成功后灌胃 2 个月,与 OA 模型空白组关节粘改善度比较,OA 模型阳性对照组和 OA 模型 TSA 低、中、高剂量组差异有统计学意义($P<0.05$),OA 模型阳性对照组与 OA 模型 TSA 高剂量组比较差异有统计学意义($P<0.01$);滑膜 HE 染色和滑膜炎评分比较,OA 模型空白组见大量滑膜组织炎细胞浸润、纤维组织增生以及滑膜细胞增生、排列紊乱,滑膜组织周边可见较多毛细血管增生,呈重度滑膜炎表现,OA 模型阳性对照组见中度滑膜组织炎细胞浸润、纤维组织增生以及滑膜细胞增生、排列不规则,滑膜组织周边可见少量毛细血管增生,呈中度滑膜炎表现,OA 模型 TSA 高剂量组见轻度滑膜组织炎细胞浸润、纤维组织增生以及滑膜细胞增生、排列尚规则,滑膜组织周边可见微量毛细血管增生,呈轻度滑膜炎表现; β -catenin 蛋白免疫组化比较,OA 模型阳性对照组和 OA 模型 TSA 高剂量组与 OA 模型空白组比较,差异有统计学意义($P<0.01$),OA 模型阳性对照组与 OA 模型 TSA 高剂量组比较差异有统计学意义($P<0.05$);各组与正常组比较 TNF-1, IL-1 β , MMP-3 指标差异有统计学意义($P<0.05$),OA 模型 TSA 高剂量组与 OA 模型阳性对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$),两者与 OA 模型空白组比较差异有统计学意义($P<0.01$)。结论:牛膝总皂苷能有效抑制 OA 滑膜炎症,改善关节粘连度,降低滑膜组织 β -catenin 蛋白表达以及减少关节液 TNF-1, IL-1 β , MMP-3 因子含量,其作用机理有待进一步探索。

[关键词] 骨关节炎;牛膝;牛膝总皂苷;滑膜炎; β -连环蛋白

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2017)06-0001-05

Effect of Total Saponins of Achyranthes on Osteoarthritis Synovial Tissue in Experimental Rabbits

YU Tian¹ PENG Liping¹ MA Dujun^{1△} CHEN Da¹

WANG Lixin¹ XIAO Wei¹ TAN Ruiquan¹ XU Wenming¹

¹Shenzhen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen 518033, Guangdong China.

Abstract Objective: To observe the effect of total saponins of achyranthes (TSA) on synovial tissue in osteoarthritis (OA) model of rabbit. **Methods:** Forty experimental rabbits were divided into normal group ($n=8$) and OA model group ($n=32$). The OA model group was divided into OA model positive control group, OA model blank group, and OA model TSA low dose group, medium dose group, and high dose group (6 cases in each group) after successful modeling in OA, which were treated with glucosamine sulfate, distilled water and low dose, medium dose and high dose of TSA by gavage respectively. After 2 months, the improvement degree of joint adhesion was measured. The synovial tissue was staining by pathology of hematoxylin-eosin (HE). The KRENN score of synovitis was recorded. The expression of β -catenin was

detected by immunohistochemistry method. The levels of TNF-1, IL-1 β and MMP-3 in synovial fluid were detected by Elisa method. **Results:** After successful modeling in OA and intragastrical administration for 2 months, the improvement

基金项目:深圳市卫生计生系统科研项目(201501041)

¹ 广东深圳市中医院(广东 深圳, 518033)

[△]通信作者 E-mail:535709914@qq.com

degree of joint adhesion in the OA model positive control group and the OA model TSA low, medium and high dose group were statistical different than the OA model blank group ($P < 0.05$), and there was significantly different between the OA model positive control group and the OA model TSA high dose group ($P < 0.01$). Comparison of synovial HE staining and synovitis score: OA model blank group showed a large number of synovial tissue inflammatory cell infiltration, fibrous tissue hyperplasia and synovial cell hyperplasia, derangement, synovial tissue surrounding more visible capillary hyperplasia, which showed severe manifestations of synovitis. In OA model positive control group, there was moderate synovial tissue inflammatory cell infiltration, fibrous tissue hyperplasia and synovial cell hyperplasia, irregular arrangement, synovial tissue surrounding a small amount of blood capillary hyperplasia, synovitis showed moderate expression. OA model TSA high dose group showed mild synovial inflammatory cell infiltration, fibrous tissue hyperplasia and synovial cell hyperplasia, row column still rules, synovial tissue could be seen around the micro capillary hyperplasia, mild manifestations of synovitis. Compared with OA model blank group on β -catenin protein immunohistochemistry, OA positive control group and OA model TSA high dose group had significantly statistical different ($P < 0.01$), and there was significant difference between OA model positive control group and OA model TSA high dose group ($P < 0.05$). Compared with the normal group on TNF-1, IL-1 β , MMP-3 index, the other groups had significant different ($P < 0.05$), and the OA model positive control group and OA model TSA high dose group had no significant difference ($P > 0.05$), both of them were significant difference when compared with OA model blank group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Total saponins of achyranthes can effectively inhibit OA synovial inflammation, improve the degree of articular adhesion, reduce the expression of β -catenin protein in synovial tissue and decrease the levels of IL-1 β , TNF-1, MMP-3 factor in joint fluid, and its mechanism should be further explored.

Keywords: osteoarthritis; achyranthes bidentata; total saponins of achyranthes; synovitis; β -catenin protein

骨关节炎 (Osteoarthritis, OA), 是一种退化性关节疾病, 伴有软骨磨损、关节囊病变及滑膜炎症^[1]。而且滑膜炎严重程度与 OA 进展之间存在相关性^[2], 是 OA 发展机制中必不可少的重要因素之一。因此, 滑膜有望成为治疗 OA 的新靶点, 以达改善临床症状和预防关节结构改变的目的。前期实验表明, 怀牛膝能修复实验兔 OA 模型软骨病损, 改善膝关节粘连度, 并有消炎镇痛的作用, 故本研究采用怀牛膝有效成分牛膝总皂苷(TSA)体内干预实验兔膝 OA 模型, 观察其对滑膜组织的影响, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 动物

新西兰大白兔(广东省实验动物中心提供, 动物合格证 SCXK(粤)2014-0035), 兔龄 2~3 个月, 体质量 (1.68 ± 0.49) kg, 雌雄不限。

1.2 药物及试剂

TSA, 批号 HQZZG130911, 含量为 60.3%, 陕西森弗生物技术有限公司, 用时以蒸馏水溶解分别配制成高、中、低(13.3, 6.7, 3.3 mg/mL) 3 种浓度的 TSA 混悬液 15 mL/kg 灌胃; 硫酸氨基葡萄糖, 批号 7KB0102, 国药产品注册证号 HC20120036, 信东生技股份有限公司提供; Rabbit 肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 酶联免疫吸附测定 (ELISA) Kit (货号 AE90301Rb)、Rabbit 白细胞介素-1 β (IL-1 β) ELISA Kit (货号 AE90731Rb)、Rabbit 基质金属蛋白酶-3 (MMP-3) ELISA Kit (货号 3460) 由 AMEKO 公司提供; 免疫组

化 β -catenin 蛋白一抗体, 由碧云天公司提供(产品编号 AC106)。

1.3 实验时间、场所

于 2015 年 9 月至 2016 年 6 月在深圳市中医药研究院中心实验室完成。

1.4 实验方法

1.4.1 实验分组 健康新西兰兔 40 只, 适应性喂养 1 周后进行实验分组, 随机将动物分配至正常组 8 只、OA 模型组 32 只。造模 6 周后从 OA 模型组随机抽取 2 只实验兔与正常组 2 只兔进行比较, 验证 OA 造模是否成功。造模成功后将 OA 模型组剩下 30 只实验兔再次随机分为 OA 模型阳性对照组、OA 模型空白组、OA 模型 TSA 低剂量组、OA 模型 TSA 中剂量组、OA 模型 TSA 高剂量组, 各 6 只。上述一兔一笼进行标准喂养, 兔笼大小为 800 mm \times 600 mm \times 400 mm, 允许其在笼内自由活动。混合饲料喂养, 自由饮水, 每日去除兔粪和食物残渣, 保证饲养环境清洁。每天观察实验兔的食量、大小便、活动度、步态及精神状况。

1.4.2 骨关节炎动物造模、鉴定 按照马氏 OA 造模方法进行实验兔右膝关节向前伸直位管型石膏固定, 石膏外层缠绑带, 肢体不用棉垫包裹, 防止石膏易脱落, 每天记录实验兔肢端血液循环、固定石膏稳定度、活动量等情况, 必要时调整石膏, 固定 6 周后行 OA 模型鉴定^[3]。

1.4.3 药物体内干预 参照药理试验中动物与人体

间的等效剂量进行换算,结合体重按相应剂量用蒸馏水稀释成 10 mL 后连续灌服 2 个月,每天灌胃给药 1 次;OA 模型阳性对照组,硫酸氨基葡萄糖 77 mg/kg;OA 模型空白组,蒸馏水 10 mL;OA 模型 TSA 高、中、低剂量组,TSA 200,100,50 mg/kg,分别相当于牛膝生药量 10,5,2.5 g/kg,为成人临床剂量的 12 倍,6 倍,3 倍;正常组,蒸馏水 10 mL。

1.4.4 关节粘连改善度测定 对造模后 OA 模型兔进行灌胃前、后的右膝关节活动度测定,粘连改善度=灌胃后关节活动度-灌胃前关节活动度,关节活动度采用改良的 Clarke-weeknesser 关节伸屈范围检查标准^[4]。测量时,固定髌关节,距膝关节远侧相等距离,悬挂同等重量砝码 0.5kg,用高精度的测角仪测定每只兔子的膝关节屈曲角度,每一个角度测 3 次,取其平均值。

1.4.5 关节液 TNF-1,IL-1 β 及 MMP-3 的含量检测 药物干预 2 个月后,于无菌条件下行左膝关节穿刺注入生理盐水 1.5 mL,并抽取患侧关节液,2 500 r/min 离心 15 min,取上清液置-20℃保存,按照 TNF-1,IL-1 β 及 MMP-3 ELISA Kit 说明进行检测。

1.4.6 滑膜组织苏木精-伊红染色、滑膜炎评分、 β -catenin 蛋白免疫组化检测 处死各实验组兔,髌骨旁入路,取关节内侧滑膜组织 5 mm \times 5 mm 大小,首先进行关节滑膜大体形态学观察,新鲜标本以 10% 中性福尔马林液固定 48 h,然后常规脱水、包埋,连续切片,厚 4~5 μ m,进行苏木精-伊红染色,光镜下观察组织形态变化,滑膜炎病理学分级按 KRENN 标准^[5],光镜下依滑膜细胞增殖、血管增生程度、炎性细胞浸润程度判断,分别计为 0~3,最终三者之和记为滑膜炎得分,将滑膜炎分为 3 级,即无滑膜炎(0~1 分)、轻度滑膜炎(2~3 分)、中度滑膜炎(4~6 分)、高度滑膜炎(7~9 分),得分越高炎性越重。部分滑膜组织连续切片厚 3~4 μ m,留做免疫组化染色,测定蛋白表达含量情况,用阳性百分率表示,阳性百分率值越高证明蛋白表达越高。

1.5 统计学方法

用 SPSS23.0 统计软件分析。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

对所测定结果进行正态性及方差齐性检验,不满足方差分析时用非参数检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 一般情况

全部实验动物 OA 模型造模成功,关节软骨表面可见光泽度减低,颜色较正常关节软骨变白硬化,软骨面有不同程度粗糙、溃疡、糜烂形成,关节边缘骨刺形成。实验动物灌胃时因操作不当致 OA 模型阳性对照组、OA 模型 TSA 中剂量组各死亡 1 只。

2.2 关节粘改善度评定

OA 模型阳性对照组关节粘连改善度为 $80.34^{\circ} \pm 5.06^{\circ}$,OA 模型空白组 $68.15^{\circ} \pm 4.23^{\circ}$,OA 模型 TSA 低剂量组 $75.51^{\circ} \pm 5.34^{\circ}$,OA 模型 TSA 中剂量组 $86.11^{\circ} \pm 5.30^{\circ}$,OA 模型 TSA 高剂量组 $88.13^{\circ} \pm 4.85^{\circ}$,正常组 $89.24^{\circ} \pm 4.12^{\circ}$,与 OA 模型空白组比较,OA 模型阳性对照组和 OA 模型 TSA 低、中、高剂量组差异有统计学意义($P<0.05$);OA 模型阳性对照组与 OA 模型 TSA 高剂量组比较差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.3 滑膜组织苏木精-伊红染色、病理评分

滑膜组织苏木精-伊红染色,正常组(图 1A)可见正常滑膜组织、滑膜内膜及内膜下层细胞排列整齐;OA 模型空白组(图 1B)可见大量滑膜组织炎细胞浸润、纤维组织增生以及滑膜细胞增生、排列紊乱,滑膜组织周边可见较多毛细血管增生,呈重度滑膜炎表现;OA 模型阳性对照组(图 1C)可见中度滑膜组织炎细胞浸润、纤维组织增生以及滑膜细胞增生、排列不规则,滑膜组织周边可见少量毛细血管增生,呈中度滑膜炎表现;OA 模型 TSA 高剂量组(图 1D)可见轻度滑膜组织炎细胞浸润、纤维组织增生以及滑膜细胞增生、排列尚规则,滑膜组织周边可见微量毛细血管增生,呈轻度滑膜炎表现。

各组滑膜炎病理学分级表现(表 1),正常组为无滑膜炎,OA 模型阳性对照组为中度滑膜炎,OA 模型空白组为重度滑膜炎,OA 模型 TSA 高剂量组为轻度滑膜炎,OA 模型 TSA 中剂量组和低剂量组为中度滑膜炎,并且滑膜炎程度与 TSA 剂量呈负相关性表现。

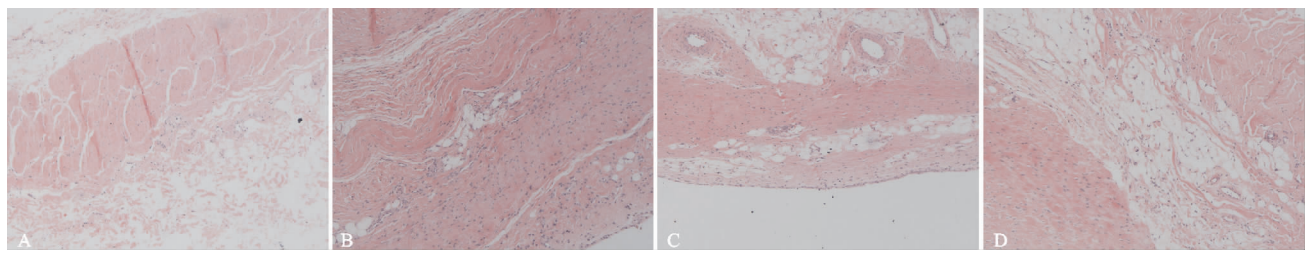


图 1 滑膜组织苏木精-伊红染色($\times 100$)

表 1 各组滑膜病理组织滑膜炎评分(̄±s)

组别	例数	滑膜细胞增殖	血管增生程度	炎性细胞浸润	滑膜炎评分
正常组	6	0.03±0.25	0.05±0.50	0.03±0.25	0.18±0.23
OA 模型阳性对照组	5	1.35±0.98	2.11±0.34	1.87±0.53	5.02±1.61 ¹⁾
OA 模型空白组	6	2.46±1.01	2.16±0.94	2.68±0.52	7.36±1.49
OA 模型 TSA 高剂量组	6	0.58±0.12	1.13±0.58	1.01±0.31	2.53±1.12 ²⁾³⁾
OA 模型 TSA 中剂量组	5	1.36±0.95	1.58±0.79	2.05±0.12	4.83±1.26
OA 模型 TSA 低剂量组	6	2.12±0.11	1.24±0.86	2.52±0.94	5.62±1.07

注:经秩和检验,与 OA 模型空白组比较,1)Z=−4.522,P<0.001,P<0.01;2)Z=−3.217,P=0.001,P<0.01;3)与 OA 模型阳性对照组比较,Z=−2.724,P=0.003,P<0.05.

2.4 免疫组化 β-catenin 蛋白表达

滑膜组织免疫组化染色,正常组(图 2A),未见明显 β-catenin 蛋白表达,阳性百分率为 1.03%±0.65%;OA 模型空白组(图 2B),见大量滑膜组织阳性表达,百分率为 39.15%±7.26%;OA 模型阳性对照组(图 2C),见滑膜组织阳性表达,百分率为 27.12%

±8.15%;OA 模型 TSA 高剂量组(图 2D),见少量滑膜组织阳性表达,百分率为 18.58%±4.21%.与 OA 模型空白组比较,OA 模型阳性对照组和 OA 模型 TSA 高剂量组差异有统计学意义(P<0.01);OA 模型阳性对照组与 OA 模型 TSA 高剂量组比较差异有统计学意义(P<0.05)。

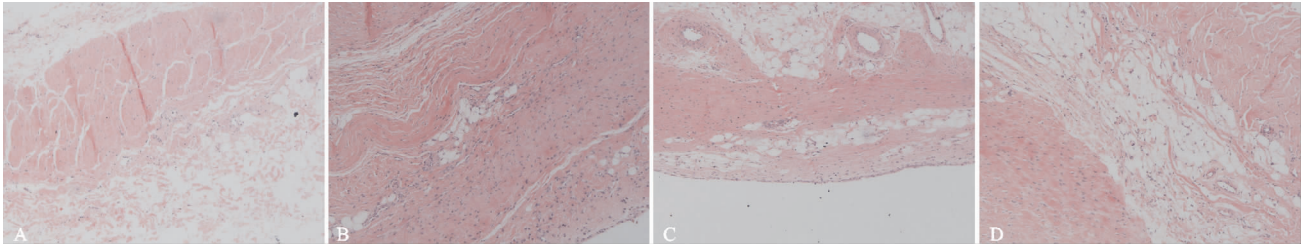


图 2 滑膜组织免疫组化 β-catenin 蛋白表达(×100)

2.5 关节液检测 TNF-1,IL-1β 及 MMP-3 的含量

关节液炎症因子检测提示(表 2),各组与正常组比较 TNF-1,IL-1β 及 MMP-3 指标差异有统计学意义(P<0.05);OA 模型 TSA 剂量组 TNF-1,IL-1β 及 MMP-3 指标随着 TSA 剂量增加有减低表现,呈剂量

负相关性,其中 OA 模型 TSA 高剂量组与 OA 模型阳性对照组比较差异无统计学意义(P>0.05),两者与 OA 模型空白组比较差异有统计学意义(P<0.01),说明 OA 模型 TSA 高剂量组效果最佳。

表 2 各组关节液 TNF-1,IL-1β 及 P-3 的含量比较(̄±s,μg/L)

组别	例数	TNF-1	IL-1β	MMP-3
正常组	6	228.93±18.72	201.26±21.55	7.62±1.05
OA 模型阳性对照组	5	258.22±21.37 ¹⁾	189.78±9.21 ¹⁾	7.98±1.12 ¹⁾
OA 模型空白组	6	364.28±19.03	320.41±5.89	11.65±1.63
OA 模型 TSA 高剂量组	6	261.17±18.33 ²⁾³⁾	190.53±6.62 ²⁾³⁾	6.54±1.08 ²⁾³⁾
OA 模型 TSA 中剂量组	5	281.05±17.58	243.67±8.04	8.74±0.94
OA 模型 TSA 低剂量组	6	325.11±18.73	278.52±6.32	9.62±1.36

注:经秩和检验,与 OA 模型空白组比较,1)Z=−4.981,P<0.01;2)Z=−3.935,P<0.01;3)与 OA 模型阳性对照组比较,Z=−0.112,P=0.914;各组与正常组比较,P<0.05.

3 讨论

膝 OA 常并发滑膜病变,临床以膝关节肿胀、疼痛、功能受限等为主要症状的非感染性炎症,主要是因长期慢性劳损或外伤,加之风、寒、湿等外邪侵袭,可使膝部逐渐出现肿胀、功能障碍,从而形成慢性滑膜炎。其主要病理改变为滑膜血管扩张、充血,产生大量渗液、血浆及血细胞外渗,同时滑膜细胞活跃而产生大量粘液素。渗液中含有胆红素、白细胞、脂肪粘液素、红细胞和纤维素等,处理不及时可发生滑膜粘连、肥厚、

软骨萎缩等,进一步导致关节活动功能受限。
怀牛膝是治疗 OA 的主要中药之一,具有“补肝肾,强筋骨”作用,主要有效成分包含皂苷类、多糖类、甾酮类、黄酮类等,其中牛膝总皂苷具有促进软骨增殖、修复骨关节炎软骨组织形态的作用^[6],能明显改善骨关节炎症状。已有专项实验报道,牛膝醇提物具有改善 OA 大鼠的滑膜炎作用^[7]以及牛膝醇溶液透药治疗人膝 OA 能明显减轻膝关节肿胀症状^[8]。因此课题组采用牛膝总皂苷体内对^[7]模型进行干预,发现牛膝总皂苷与 OA 空白对照组比较有明显改善滑膜炎症

状态,降低炎症细胞数量、减少滑膜细胞增殖以及缓解血管增生程度,说明牛膝总皂苷对 OA 具有一定的抗炎作用。彭力平等^[9]研究发现牛膝醇提物体内干预具有改善 OA 模型关节粘连度的作用,与此次实验证实牛膝总皂苷能减少滑膜纤维细胞增生及改善关节活动度结果相符合,说明牛膝总皂苷是牛膝醇提物治疗膝 OA 的重要物质之一。

近期研究表明皂苷类具有降低 Wnt 通路 β -catenin 蛋白的磷酸化来下调 β -catenin mRNA 的表达和抑制 Wnt 信号通路,下调 TGF- β 1 表达发挥抑制系膜细胞增殖^[10],课题组免疫组化结果表明牛膝总皂苷具有降低滑膜组织 β -catenin 蛋白表达,与 OA 模型阳性对照组比较统计学差异,说明其对 Wn/ β -catenin 信号通路具有一定的调控作用。多项研究表明,炎性因子在 OA 发病过程中起到重要作用^[11],其中 MMPs 是 OA 关节软骨损伤的“共同通路”,大量存在于关节滑膜液中,MMP-3 是 MMPs 家族主要代表之一,具有降解多种基质蛋白底物,可与 MMP-1,MMP-9 及 MMP-13 等酶原产生协同作用^[12,13]。TNF- α 和 IL-1 β 因子具有抑制软骨合成、加快关节软骨降解的作用,在 OA 病理过程中起到重要介导作用^[14]。陈达等^[15]用牛膝醇提物对兔骨关节炎模型灌胃后发现,牛膝醇提物组较空白对照组能明显降低血液和关节液中 TNF- α ,IL-1 β 及 MMP-3 等炎症介质的含量,以及孙雪莲等^[16]证实牛膝总皂苷能显著降低兔膝骨关节炎关节液中 IL-1 β 含量,与本实验牛膝总皂苷组具有明显降低关节液中 TNF-1,IL-1 β 及 MMP-3 等炎症因子含量相符合。

本研究通过观察牛膝有效成分牛膝总皂苷对实验兔 OA 滑膜组织的干预,证实了牛膝总皂苷能有效减轻 OA 滑膜病变的严重程度,改善关节粘连度,同时能明显降低关节液中 TNF-1,IL-1 β 及 MMP-3 等炎症因子的含量,其中 OA 模型 TSA 高剂量组效果最佳,对改善慢性滑膜炎具有极其重要的理论意义,但其具体作用机理还需进一步研究。

参考文献

[1] 霍红军,王维山,董金波,等. 骨性关节炎患者不同病变程度滑膜中基质金属蛋白酶-3 的表达及意义[J]. 实用医学杂志,2014,30(6):895-897.

[2] 宋朋飞,阚卫兵,赵婧,等. 补肾活血方对人滑膜细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路的调控作用[J]. 中华中医药杂

志,2014,29(9):2806-2809.

[3] 曾俊华,马笃军,彭力平,等. 实验兔膝关节炎模型的建立及鉴定[J]. 中国临床研究,2016,29(5):679-682.

[4] 杨波,姜鑫,张益民,等. A 型肉毒素预防膝关节纤维性粘连[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2009,13(20):3929-3932.

[5] Krenn V,Morawiet ZL,Burmester GR,et al. Synovitis score: discrimination between chronic low-grade and high-grade synovitis[J]. Histopathology,2006,49(4):358-364.

[6] 刘渊,孙雪莲,周红海,等. 牛膝总皂苷含药血清对兔膝软骨细胞增殖与调亡的实验研究[J]. 时珍国医国药,2015,26(10):2382-2385.

[7] 赵佳,杨桂枝,田汉文. 牛膝醇提物对佐剂性关节炎模型大鼠滑膜病理的影响[J]. 西部医学,2008,20(3):485-487.

[8] 陈达,彭力平,廖州伟,等. 牛膝醇溶液透药联合硫酸氨基葡萄糖治疗膝骨关节炎的临床观察[J]. 中国中医骨伤科杂志,2016,24(12):29-31.

[9] 彭力平,马笃军,林栋栋,等. 牛膝醇提物体内诱导兔骨关节炎模型软骨修复的病理学观察[J]. 湖南中医杂志,2013,29(2):126-129.

[10] 孙雪艳,杨丽平,占永立,等. 薯蓣皂苷抑制脂多糖刺激的大鼠系膜细胞增殖及对 Wnt 通路的影响[J]. 中华中医药杂志,2014,29(3):871-874.

[11] 郭伟雄,魏波. 炎症细胞因子及通路在骨关节炎中的研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2015,36(15):2240-2241.

[12] 贺占坤,沈杰威. MMP-2、MMP-3、MMP-9 和 TIMP-1 评价膝关节骨性关节炎的临床研究[J]. 重庆医学,2013,42(32):3872-3874.

[13] Pathak NN,Lingaraju MC,Balaganur V,et al. Anti-inflammatory and chondroprotective effects of atorvastatin in a cartilage explant model of osteoarthritis [J]. Inflammation Res,2015,64(3/4):161-169.

[14] Osta B,Roux JP,Lavocat F,et al. Differential effects of IL-17A and TNF- α on osteoblastic differentiation of isolated synoviocytes and on bone explants from arthritis patients [J]. Front Immunol,2015,6:151.

[15] 陈达,廖州伟,马笃军,等. 牛膝醇提物对兔骨关节炎模型的疗效比较[J]. 中国医药导报,2016,13(25):21-24.

[16] 孙雪莲,刘渊,周红海. 牛膝总皂苷对兔膝骨关节炎软骨组织形态变化及关节液中 IL-1 β ,TGF- β 1 含量的影响[J]. 中药新药与临床药理,2016,27(3):321-326.

(收稿日期:2016-12-07)