

# 吴门芪藤汤对大鼠膝骨关节炎成纤维样滑膜细胞氨基末端激酶的影响

尤君怡<sup>1</sup> 龚正丰<sup>1</sup> 梁国强<sup>1,2△</sup>

**[摘要]** 目的:通过观察吴门芪藤汤对弗氏完全佐剂(CFA)诱导的大鼠膝骨关节炎(KOA)模型关节成纤维样滑膜细胞炎性细胞因子表达以及 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)通路活化的影响,探讨吴门芪藤汤治疗膝骨关节炎的抗炎和抑制成纤维样滑膜细胞过度凋亡的作用机制。方法:采用 CFA 诱导的 KOA 大鼠模型为研究对象,各给药组分别用 SP600125(JNK 抑制剂)和吴门芪藤汤灌胃干预后,观察原代培养的成纤维样滑膜细胞中白介素 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、基质金属蛋白酶-3(MMP-3)表达差异以及细胞凋亡和 JNK 通路的活化情况。结果:与模型组比较,吴门芪藤汤组明显降低成纤维样滑膜细胞原代培养上清中 IL-1 $\beta$ ,TNF- $\alpha$  及 MMP-3 含量水平,差异有统计学意义( $P<0.05$ );显著抑制成纤维样滑膜细胞过度凋亡,差异有统计学意义( $P<0.01$ );显著抑制成纤维样滑膜细胞 JNK 通路蛋白的磷酸化,差异有统计学意义( $P<0.001$ )。结论:吴门芪藤汤通过降低 CFA 诱导的 KOA 大鼠成纤维样滑膜细胞分泌炎性细胞因子水平减弱 JNK 通路活化,进而抑制滑膜组织过度凋亡,这可能是其治疗膝骨关节炎潜在的机制之一。

**[关键词]** 膝骨关节炎;吴门芪藤汤;成纤维样滑膜细胞;氨基末端激酶

**[中图分类号]** R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2019)10-0005-05

## Observing the Effect of Wumenqiteng Decoction on the Expression of JNK Pathways of Arthritis Rat

YOU Junyi<sup>1</sup> GONG Zhengfeng<sup>1</sup> LIANG Guoqiang<sup>1,2△</sup>

<sup>1</sup> Department of Orthopedics and Traumatology, Suzhou Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Suzhou 215003, Jiangsu China;

<sup>2</sup> Suzhou Academy of Wumen Chinese Medicine, Suzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Suzhou 215009, Jiangsu China.

**Abstract Objective:** Through the investigating the effect of Wumenqiteng decoction on the expression of inflammatory factor in fibroblast-like synoviocytes and JNK pathways of CFA(complete Freund's adjuvant) induced arthritis rat model, to explore the mechanism of Wumenqiteng decoction for the treatment of anti-inflammatory and inhibits excessive apoptosis of fibroblast-like synovial cells of osteoarthritis of the knee. **Methods:** The CFA induced arthritis rat model was regarded as the study subject, SP600125(JNK inhibitor) and Wumenqiteng decoction were used in each experiment group for gastric intervention. To observe the expression differences of interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), matrix metalloproteinase-3(MMP-3) and cell apoptosis and the activation of JNK pathway on the original cultured synovial cells. **Results:** Compared with the model group, the expression of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and MMP-3 in the supernatant were obviously decreased of primary culture fibroblast-like synoviocytes compound with the Wumenqiteng decoction group ( $P<$

0.05), and the cell apoptosis in fibroblast-like synoviocytes were significantly reduced ( $P<0.01$ ), the protein phosphorylation of JNK pathway in fibroblast-like synoviocytes was significantly inhibited by Wumenqiteng decoction peroral treatment ( $P<0.001$ ). **Conclusion:** Wumenqiteng decoction can reduce the activation of JNK pathway by reducing inflammatory cytokine levels of fibroblast-like synoviocytes in CFA induced arthritis rat model, so as to inhibit the excessive apoptosis of synovial tissue, which might be the potential mechanism in the treatment of osteoarthritis of the knee.

**Keywords:** osteoarthritis of the knee; Wumenqiteng decoction; fibroblast-like

基金项目:第六批全国老中医药专家学术经验继承项目

(KJ180100)

江苏省青年医学重点人才培养依托项目

(QNRC2016252)

江苏省苏州市级科技计划医疗卫生应用基础研究项目(SYSD2016194/ SYSD2017128)

<sup>1</sup> 南京中医药大学附属苏州市中医医院骨伤科  
(江苏 苏州, 215003)

<sup>2</sup> 苏州市中医医院吴门医派研究院

<sup>△</sup>通信作者 E-mail:616250366@qq.com

膝关节关节炎(Knee Osteoarthritis, KOA)属于常见的局限性骨关节炎病,临床上以关节疼痛、僵硬以及活动受限和活动时出现磨擦响声为特征<sup>[1]</sup>。病因主要是生物力学、遗传、外源性等因素导致滑膜、软骨以及骨的代谢改变,进而产生炎症,关节结构破坏等。其中关节滑膜出现慢性炎症、细胞过度凋亡等为关节产生进行性破坏的主要原因之一<sup>[2,3]</sup>。笔者前期的临床试验发现“吴门芪藤汤”临床有效辅助治疗膝关节软骨损伤性关节炎<sup>[4]</sup>;在整体动物实验中发现吴门芪藤汤对弗氏完全佐剂(Complete Freund's Adjuvant, CFA)诱导 KOA 大鼠具有抑制膝关节滑膜、软骨细胞过度凋亡,而减轻膝关节炎症症状的作用<sup>[5]</sup>。因此,本研究进一步以吴门芪藤汤干预 CFA 诱导的 KOA 大鼠后,分离培养目标骨关节的成纤维样滑膜细胞,进一步验证本方是否通过调节 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal Kinase, JNK)通路的活化发挥防治膝关节关节炎的分子生物学机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF 级 SD 健康雄性大鼠,体质量 180~220 g,来源于昭衍(苏州)新药研究中心有限公司,许可证号:SCXK(苏)2018-0006。通过本单位“实验动物伦理委员会”审查,饲养条件一致。

### 1.2 实验药物

吴门芪藤汤组方为生黄芪 60 g,大血藤 15 g,当归 10 g,忍冬藤 15 g,生蒲黄 10 g,川牛膝 10 g,生甘草 6 g(按配方比例称取,以质量 10 倍水,浸泡 20 min 后通过加热提取 2 次,1 h/次,合并 2 次提取液进行浓缩为相当于生药 2.4 g/mL 的药液 4℃保存备用,以上中药饮片均为苏州市春晖堂中药饮片厂生产;SP600125(JNK 抑制剂),上海经科生物学有限公司(货号 S1876);CFA,美国 sigma 公司(货号 SLBR3877V);戊巴比妥钠,上海西唐生物科技有限公司(批号 20089104)。

### 1.3 试剂仪器

白细胞介素-1 $\beta$ (Interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (Tumour Necrosis Factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、基质金属蛋白酶-3(Matrix Metalloproteinase-3, MMP-3)酶联免疫吸附法(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA)测定试剂盒,上海邦奕生物科技有限公司生产(批号均为 201805);TUNEL(TdT-mediated dUTP Nick End Labeling)细胞凋亡检测试剂盒(货号 C1090)、4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)荧光染料(货号 C1002)、BCA(Bicinchoninic Acid)蛋白浓度测定试剂盒(货号 P001S)、羊抗兔 HRP 标记二抗(货号 A0208)、驴抗山

羊 HRP 标记二抗(货号 A0181)、羊抗鼠 HRP 标记二抗(货号 A0216),均为上海碧云天生物技术有限公司产品;大鼠 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)抗体(货号 ab199380)、p-JNK 抗体(货号 ab46821)、MMP-3 抗体(货号 ab53015)、GAPDH 抗体(货号 ab8245),均为美国 Abcam 公司产品;其他试剂均为市售分析纯。可控温高速离心机(Z320K 型),德国贺默公司产品;酶标仪(MK3 型),芬兰雷勃公司产品;倒置显微镜(DMIL 型)、荧光显微镜(DM6000B),均为德国徕卡仪器有限公司产品;电泳仪(mini Protean 2 cell 型),美国 Bio-Rad 公司产品;电转仪(TE77XP 型),美国 HOEFER 公司产品;数码相机(D5100 型),日本尼康公司产品,等。

### 1.4 方法

**1.4.1 分组及造模** 实验大鼠适应性喂养 1 周后,根据体质量以随机方法将实验大鼠分为空白组、模型组、SP600125(JNK 抑制剂)组和吴门芪藤汤(中药)组,每组 5 只。除空白组外,其它 3 组用 100  $\mu$ L CFA 注入实验大鼠右后肢内踝关节周围组织中,第 4 周后制成 AIA 大鼠模型(致炎症状观察行走、体质量、踮围)<sup>[6]</sup>,空白组对应部位注入生理盐水 100  $\mu$ L。

**1.4.2 给药方法** 相对实验模型制模剂 CFA 注射 1 周后开始给药,JNK 抑制剂组以 15 mg/kg 的剂量腹腔注射给予(浓度 1.5 mg/mL,10 mL/kg)<sup>[7]</sup>;中药组以生药 24 g/kg(经人-大鼠体表面积比值折算成相当于人临床剂量 2 倍)的吴门芪藤汤灌胃给予(生药浓度 24 g/mL,10 mL/kg)<sup>[8]</sup>;空白组和模型组以同体积的双蒸水灌胃给予;均给药 3 周。

**1.4.3 成纤维样滑膜细胞的原代培养** 各组大鼠末次给予对应受试物后 2 h,分别进行 CO<sub>2</sub> 充气法安乐死后,立即解剖制模目标的后踝关节,无菌条件下剥离关节滑膜组织,生理盐水冲洗干净后,在含有 I 型胶原酶(2.5 mg/mL)的无血清 DMEM 培养液中剪碎成尽可能小的组织块,然后移至培养瓶中进行消化培养 24 h;次日将培养液用 200 目不锈钢筛网过滤,弃除杂质,用离心管收集滤液,1 500 r/min 离心 10 min,小心去除上清,加入 DMEM 细胞培养液(含 20% FBS)悬浮细胞,按 1 $\times$ 10<sup>6</sup> 个/mL 细胞接种于 25 cm<sup>2</sup> 细胞培养皿中,置 37℃5%CO<sub>2</sub> 条件下培养过夜使其贴壁生长。贴壁细胞即为原代成纤维样滑膜细胞<sup>[9]</sup>,按实验要求检测相关指标。

**1.4.4 原代培养成纤维样滑膜细胞上清 Bcl-1, TNF $\alpha$  和 MMP-3 含量测定** 分别收集各组滑膜细胞原代培养上清液,以 1 200 r/min 离心 5 min, -80℃保存待测,统一采用大鼠细胞因子 ELISA 检测试剂盒,根据操作说明书测定 Bcl-1, TNF $\alpha$  和 MMP-3 含量。

**1.4.5 原代培养成纤维样滑膜细胞凋亡检测** 分别取各组原代培养的细胞,应用荧光 TUNEL 法检测细胞凋亡:严格按着试剂盒说明步骤进行,以原代细胞爬片后 48 h(达到上下左右汇合),常规脱蜡至水、修复、破膜、DAPI 复染细胞核及封片。镜检拍照:切片于荧光显微镜下观察并采集图像,DAPI 染出来的细胞核在紫外光的激发下为蓝色,阳性细胞核为红色,在光镜 40×40 下观察,计算 500 μm 范围内凋亡细胞比例。

**1.4.6 原代培养成纤维样滑膜细胞 p-JNK, JNK 和 MMP-3 蛋白表达检测** 分别取各组原代培养的细胞,应用 Western Blot 法检测相关蛋白表达:用预冷的 PBS 洗涤 3 次,离心弃上清。加入 RAPI 裂解液,充分匀浆至完全裂解,裂解后 1 500 r/min 离心 10 min,取上清即为蛋白质提取液,用 BCA 法测定蛋白浓度,取 40 μg 上样,用 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,电转到硝酸纤维素膜(NC 膜)上,以 5%脱脂牛奶溶液封闭 2 h,然后加入对应的单克隆抗体,4 ℃摇床过夜。再与辣根过氧化物酶结合的二抗结合,按 1:2 000 稀

释,室温孵育 1 h,TBST 洗涤后 ECL 法显色照相并分析,以相关蛋白表达水平与 GAPDH 的比率表示。

**1.4.7 统计学方法** 应用 SPSS 18.0 统计学软件,计量资料的数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间均数比较采用方差分析, $P < 0.05$  差异有统计学意义。

2 结果

**2.1 各组大鼠成纤维样滑膜细胞上清 Bcl-1, TNF-α 和 MMP-3 含量测定**

由表 1 可见:与空白组比较,模型组大鼠成纤维样滑膜细胞上清中 IL-1β, TNF-α 及 MMP-3 含量均较显著升高,差异有统计学意义( $P < 0.001$ );JNK 抑制剂组 and 中药组 IL-1β, TNF-α 及 MMP-3 含量明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  或  $P < 0.001$ );与模型组比较,JNK 抑制剂组 and 中药组 IL-1β, TNF-α 及 MMP-3 含量明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ );与 JNK 抑制剂组比较,中药组 IL-1β, TNF-α 及 MMP-3 含量明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 1 各组大鼠原代培养细胞上清 Bcl-1, TNFα 和 MMP-3 含量测定( $\bar{x} \pm s$ )

组别	鼠数	剂量/mg	IL-1β/(pg · mL <sup>-1</sup> )	TNF-α/(pg · mL <sup>-1</sup> )	MMP-3/(pg · mL <sup>-1</sup> )
空白组	5		194.81±16.52	118.75±6.34	43.44±3.63
模型组	5		284.38±18.81 <sup>3)</sup>	160.21±8.43 <sup>3)</sup>	84.24±5.81 <sup>3)</sup>
JNK 抑制剂组	5	15	242.34±15.27 <sup>2)5)</sup>	135.33±7.56 <sup>1)5)</sup>	62.93±3.71 <sup>3)5)</sup>
中药组	5	2.4×10 <sup>4</sup>	258.23±17.34 <sup>3)4)6)</sup>	148.26±10.08 <sup>2)4)6)</sup>	71.43±6.04 <sup>3)4)6)</sup>

注:与空白组比较,1) $P < 0.05$ ,2) $P < 0.01$ ,3) $P < 0.001$ ;与模型组比较,4) $P < 0.05$ ,5) $P < 0.01$ ;与 JNK 抑制剂组比较,6) $P < 0.05$ 。

2.2 各组大鼠成纤维样滑膜细胞凋亡指数比较

由表 2 及图 1 可见:与空白组比较,模型组及 JNK 抑制剂组 and 中药组细胞凋亡指数显著升高,差异有统计学意义( $P < 0.001$ );与模型组比较,JNK 抑制剂组 and 中药组细胞凋亡指数显著降低,差异有统计学意义( $P < 0.001$  或  $P < 0.01$ );与 JNK 抑制剂组比较,中药组细胞凋亡指数显著升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

表 2 各组大鼠成纤维样滑膜细胞凋亡指数比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/mg	鼠数	成纤维样滑膜细胞 凋亡指数/%
空白组		5	5.42±1.03
模型组		5	15.19±2.12 <sup>1)</sup>
JNK 抑制剂组	15	5	9.14±1.27 <sup>1)3)</sup>
中药组	2.4×10 <sup>4</sup>	5	12.35±2.25 <sup>1)2)4)</sup>

注:与空白组比较,1) $P < 0.001$ ;与模型组比较,2) $P < 0.01$ ,3) $P < 0.001$ ;与 JNK 抑制剂组比较,4) $P < 0.01$ 。

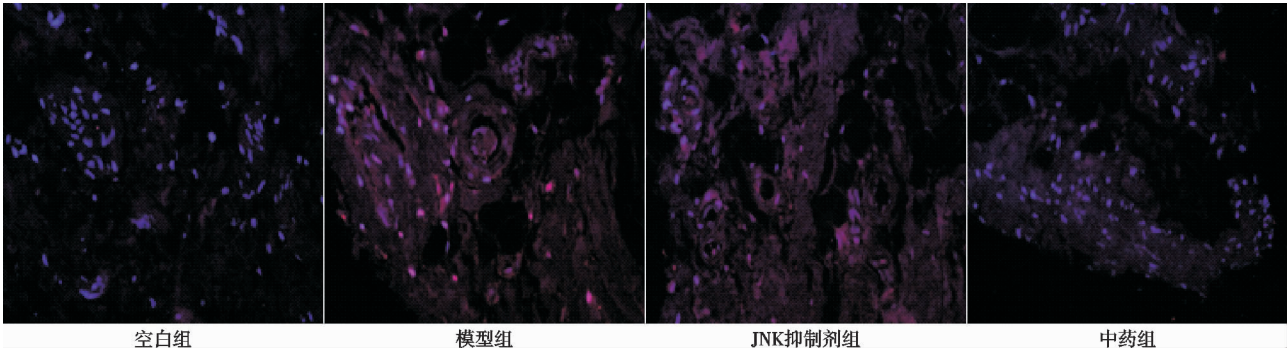


图 1 各组大鼠滑膜成纤维样滑膜细胞凋亡观察(TUNEL,400×)

2.3 各组大鼠成纤维样滑膜细胞 p-JNK, JNK 和 MMP-3 蛋白表达相对含量比较

由表 3 和图 2 可见:与空白组比较,模型组 p-

JNK, JNK 蛋白表达显著上调,差异有统计学意义( $P < 0.001$ ),MPP-3 蛋白表达显著下调,差异有统计学意义( $P < 0.001$ );与模型组比较,JNK 抑制剂组 and 中

药组 p-JNK 和 JNK 蛋白表达显著下调,差异有统计学意义( $P<0.001$ ),MPP-3 蛋白表达均显著升高,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),且与空白组相当;与 JNK

抑制剂组比较,中药组 p-JNK 和 JNK 蛋白表达均显著升高,差异有统计学意义( $P<0.001$ ),MPP-3 蛋白表达与其相当。

表 3 各组大鼠成纤维样滑膜细胞 p-JNK,JNK 和 MMP-3 蛋白表达相对含量比较( $\bar{x}\pm s$ )

组 别	剂量/mg	鼠数	p-JNK/GAPDH	JNK/GAPDH	MMP-3/GAPDH
空白组		5	0.48±0.05	0.60±0.07	0.72±0.06
模型组		5	1.02±0.11 <sup>2)</sup>	0.85±0.09 <sup>2)</sup>	0.60±0.07 <sup>2)</sup>
JNK 抑制剂组	15	5	0.41±0.05 <sup>1)4)</sup>	0.40±0.03 <sup>2)4)</sup>	0.73±0.06 <sup>3)</sup>
中药组	2.4×10 <sup>4</sup>	5	0.65±0.07 <sup>2)4)5)</sup>	0.70±0.09 <sup>1)4)5)</sup>	0.74±0.09 <sup>3)</sup>

注:与空白组比较,1) $P<0.01$ ,2) $P<0.001$ ;与模型组比较,3) $P<0.01$ ,4) $P<0.001$ ;与 JNK 抑制剂组比较,5) $P<0.001$ 。

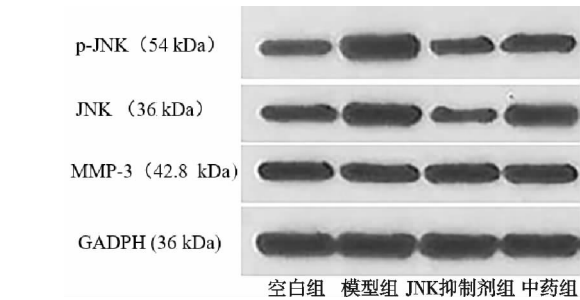


图 2 各组大鼠滑膜成纤维样滑膜细胞目标蛋白表达(Western Blot)

3 讨论

祖国医学认为 KOA 属痹证、骨痹范畴,多以肝脾肾亏虚为本,气滞血癖痰凝、风寒湿邪侵袭,痹阻经络为标,属本虚标实之证。膝关节损伤,脉络受损,血溢于外,阻塞经络,致气经络受阻。或由于肝脾肾亏虚,气血运行不畅,痰凝经络,周围组织失养,从而引起关节软骨的退变,导致 KOA 的发生与发展。

吴门芪藤汤是全国老中医药专家学术经验继承指导老师龚正丰教授依照吴门医派医学大家叶天士“宿疾宜缓攻”之旨,继承发扬吴门医派葛云彬老先生的临床经验基础上,根据现代中医对骨关节炎的认识,结合多年防治膝关节炎临床实证,认为本病的内因为年老体衰,长期劳损,血瘀气滞;外因为风寒湿邪,痹阻经络。其病机特点概括为本虚标实,以肝肾亏虚、气血不足为本,以瘀、痰、风寒湿邪为标<sup>[9]</sup>。以补气、益肝肾结合活血化瘀法可达到标本兼治的效果,由此创制了“重用黄芪”为基的吴门芪藤汤:生黄芪 60 g,大血藤 15 g,当归 10 g,忍冬藤 15 g,生蒲黄 10 g,川牛膝 10 g,生甘草 6 g。方中重用黄芪为君,发挥补气升阳、益卫固表、利水消肿的核心功效<sup>[10]</sup>;以活血通络、败毒散瘀的红藤(大血藤)和养血活血的当归共为臣药;佐以清热解毒、祛风通络的忍冬藤和凉血止血,活血消瘀的生蒲黄;再以通利关节、祛风除湿的川牛膝和调和诸药的甘草为使。诸药合用,共收补气升阳、益肝强肾、活血化瘀之效。临床据证加减,使脉络通、气血畅、肝肾足、湿邪去,病症可愈<sup>[11]</sup>。

现代研究已经证实 KOA 在其病程发生发展中,在关节滑膜中出现慢性炎症均有 IL-1 $\beta$ ,TNF- $\alpha$  等致

病的细胞因子参与,在病理状态下呈过量的表达,与其受体结合后,通过作用于滑膜细胞信号传导,导致 KOA 滑膜细胞的炎症状态下过度不平衡增生<sup>[12]</sup>,从而促进了滑膜及其紧密接触的软骨中基质金属蛋白酶(MMPs)合成和分泌,引起关节软骨吸收、降解和破坏<sup>[13]</sup>。MMP-3 是金属蛋白酶的主要成员之一,主要在 KOA 患者的滑膜细胞中表达,其与 IL-1 $\beta$ ,TNF- $\alpha$  等炎症因子在 KOA 转归中具有潜在的协同效应<sup>[14]</sup>。丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-activated Protein Kinase,MAPK)通路在 KOA 发病机制和防治中具有重要意义,而 JNK 信号通路是 MAPKs 通路在哺乳动物关节滑膜细胞和软骨细胞中较为活跃的核心通路<sup>[15]</sup>。因此,观察 JNK 蛋白在炎性滑膜细胞和软骨细胞中表达的活性具有重要的意义,本研究从分离培养吴门芪藤汤干预后的 CFA 诱导的 KOA 大鼠膝关节的成纤维样滑膜细胞实验入手,初步探讨了本方治疗 KOA 的可能作用机制。

在成纤维样滑膜细胞上清细胞炎性因子的检测结果中,吴门芪藤汤干预组显著降低了原代培养上清中 IL-1 $\beta$ ,TNF- $\alpha$  及 MMP-3 的含量水平;在细胞凋亡检测上,吴门芪藤汤明显减低了其过度凋亡的情况,初步提示吴门芪藤汤对于 CFA 诱导的 KOA 大鼠滑膜细胞“炎性-凋亡”具有一定的调控作用;Western Blot 检测吴门芪藤汤干预的滑膜细胞中 JNK 通路蛋白磷酸化水平与模型组相比明显降低,相对 JNK 抑制剂组也体现了一定的抑制作用,初步验证了吴门芪藤汤抑制成纤维样滑膜细胞 JNK 通路的过度活化。

综上所述,体现中医“活血利水、通络除湿、祛风止痛”的代表方——吴门芪藤汤,通过降低 CFA 诱导的 KOA 大鼠成纤维样滑膜细胞分泌炎性细胞因子水平,减弱 JNK 通路活化,进而调控滑膜细胞过度凋亡,从而发挥其治疗 KOA 的效应。

参考文献

[1] ALTMAN R,ASCH E,BLOCH D,et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis[J]. Arthritis & Rheumatism,1986,29(8):1039-1049.  
[2] 姚丽,赵婧,周强,等. 祛瘀化痰利湿方对大鼠膝关节炎

- 滑膜组织和血清 IL-1 $\beta$ , MMP-1 及 COMP, CTX-II 的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2015, 23(11): 5-8.
- [3] 马玉峰, 祁印泽, 贺立娟, 等. 膝骨性关节炎肌骨超声滑膜病变与 Lysholm 评分的相关性分析[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2016, 24(11): 19-23.
- [4] 马奇翰, 龚正丰, 江国荣, 等. 吴门芪藤汤辅助治疗膝关节软骨损伤性关节炎 20 例临床观察[J]. 甘肃中医药大学学报, 2018, 35(6): 57-61.
- [5] 尤君怡, 龚正丰, 梁国强. 吴门芪藤汤对佐剂性关节炎大鼠膝关节滑膜、软骨组织细胞凋亡的影响[J]. 河北中医, 2019, 41(2): 262-267.
- [6] 张巍, 王芳, 王博, 等. 佐剂诱导关节炎大鼠模型的建立及成纤维样滑膜细胞的分离[J]. 中国实验动物学报, 2012, 20(6): 73-77.
- [7] 周凌云, 钟玉, 张玉笛, 等. 复元胶囊对骨关节炎软骨细胞凋亡中 JNK/Bax 信号通路的影响[J]. 中成药, 2015, 37(7): 1422-1426.
- [8] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 203.
- [9] 惠初华, 孟祥奇, 姜宏. 从痰湿瘀论治膝骨性关节炎的临床观察[J]. 中医正骨, 2007, 19(2): 12-13.
- [10] 陈泽林, 黄绍宽, 刘富林, 等. 黄芩在膝骨关节炎治疗中的应用现状及研究进展[J]. 广州医药, 2015, 46(5): 93-96.
- [11] 张志刚, 刘锦涛. 龚正丰教授治疗膝骨性关节炎经验介绍[J]. 新中医, 2014, 46(11): 24-25.
- [12] 燕太强, 吕厚山, 药立波. 类风湿关节炎滑膜细胞酪氨酸激酶信号传导系统[J]. 中华风湿病学杂志, 1999(2): 56-58.
- [13] 范凯健, 吴菁, 李钦, 等. 基质金属蛋白酶 13 在软骨重塑和关节炎中的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(5): 607-611.
- [14] MUSUMECI G, CASTROGIOVANNI P, TROVATO F M, et al. Biomarkers of chondrocyte apoptosis and autophagy in osteoarthritis[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(9): 20560-20575.
- [15] 王珂杰, 许晨阳, 张益舸, 等. MAPK/ERK 通路基因遗传变异和膝关节炎遗传易感性的关联研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2018, 38(6): 781-785.
- (收稿日期: 2019-05-11)
- (上接第 4 页)
- [2] 刘强, 王飞, 张军. 关节突关节压力负荷的生物力学研究进展[J]. 中医正骨, 2016, 28(1): 72-75.
- [3] AVRAMOV A I, CAVANAUGH J M, OZAKTAY C A, et al. The effects of controlled mechanical loading on group-II, III and IV afferent units from the lumbar facet joint and surrounding tissue: an in vitro study[J]. J Bone Joint Surg Am, 1992, 74(10): 1464-1471.
- [4] 毕胜, 李义凯, 汪爱媛, 等. 不同推拿手法下腰椎小关节应力变化的观察[J]. 中国康复医学杂志, 2001, 16(3): 144-145.
- [5] HERZOG W. The biomechanics of spinal manipulation[J]. J Bodyw Mov Ther, 2010, 14(3): 280-286.
- [6] DOWNIE A S, VEMULPAD S, BULL P W. Quantifying the high-velocity, low-amplitude spinal manipulative thrust: a systematic review[J]. J Manipulative Physiol Ther, 2010, 33(7): 542-553.
- [7] 张军, 王飞, 刘强, 等. 腰椎关节松动手法及冲击手法下力在关节突关节内的传导特征[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(17): 2546-2554.
- [8] 张军, 刘强, 孙树椿, 等. 基于退变椎间盘模型的旋转手法对椎体角度位移的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2016, 24(5): 1-4.
- [9] MAIGNE J Y, GUILLON F. Highlighting of intervertebral movements and variations of intradiskal pressure during lumbar spine manipulation: a feasibility study[J]. J Manipulative Physiol Ther, 2000, 23(8): 531-535.
- [10] 马信龙, 马剑雄, 徐卫国, 等. 骨科生物力学研究的测量方法专家共识[J]. 中国骨质疏松杂志, 2014, 20(9): 1039-1054.
- [11] TANASIC I, MILIC-LEMIC A, TIHACEK-SOJIC L, et al. Analysis of the compressive strain below the removable and fixed prosthesis in the posterior mandible using a digital image correlation method[J]. Biomech Model Mechanobiol, 2012, 11(6): 751-758.
- [12] HSU V M, WES A M, TAHIRI Y, et al. Quantified facial soft-tissue strain in animation measured by real-time dynamic 3-dimensional imaging[J]. Plast Reconstr Surg Glob Open, 2014, 2(9): e211.
- [13] 张人文, 莫灼锚, 唐树杰. 腰椎间盘突出症治疗手法的有限元研究现状[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2018, 26(1): 81-83.
- [14] AMIN D B, MOAWAD C M, COSTI J J. New findings confirm regional internal disc strain changes during simulation of repetitive lifting motions[J]. Annals of Biomedical Engineering, 2019, 47(6): 1378-1390.
- [15] CHAUDHRY H, JI Z, SHENOY N, et al. Viscoelastic stresses on anisotropic annulus fibrosus of lumbar disk under compression, rotation and flexion in manual treatment[J]. J Bodyw Mov Ther, 2009, 13(2): 182-191.
- [16] 徐海涛, 张美超, 李义凯, 等. 坐位旋转手法对正常椎间盘内在应力和位移的实时监测的实验研究[J]. 中国康复医学杂志, 2005, 20(8): 563-565.
- [17] 张勇, 毕胜. 腰椎旋转手法对髓核内压力和神经根位移的影响[J]. 颈腰痛杂志, 2001, 22(3): 184-186.
- (收稿日期: 2019-06-04)