

# 阳和汤调节磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B 信号通路抑制骨关节炎软骨退变的机制

桂苗<sup>1</sup> 施珊妮<sup>1</sup> 黄泽灵<sup>1</sup> 何俊君<sup>1</sup> 李田花<sup>1</sup> 洪振强<sup>1,2,△</sup>

**[摘要]** 目的:基于 PI3K/AKT/BCL-2/BAX 信号通路探讨阳和汤对膝骨关节炎的作用及相关机制。方法:将 24 只新西兰大白兔随机分为空白组、木瓜蛋白酶组、阳和汤组和塞来昔布组共四组,每组各 6 只。其中除空白组外均采用膝关节腔注射木瓜蛋白酶建立骨关节炎模型。在造模结束后,阳和汤组和塞来昔布组分别喂药阳和汤和西药塞来昔布治疗,1 次/d,连续 4 周,空白组和模型组则不进行干预。采用苏木精-伊红(HE)染色观察骨关节炎兔膝关节软骨层次结构的形态变化,并行改良 Mankin's 评分。Western Blot 和 RT-qPCR 分别检测软骨 PI3K、AKT、BCL-2、BAX 的蛋白和 mRNA 表达。结果:改良 Mankin's 评分比较,与空白对照组相比,模型组评分较空白组显著升高( $P < 0.01$ ),阳和汤组和塞来昔布组较模型组显著降低,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。RT-qPCR 与 Western Blot 结果显示,与空白组比较,模型组显著下调 PI3K、AKT、BCL-2 mRNA 和蛋白的表达( $P < 0.01$ ),同时上调 BAX mRNA 和蛋白的表达,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与模型组比较,阳和汤组和塞来昔布组上调了 PI3K、AKT、BCL-2 mRNA 和蛋白的表达,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),下调 BAX mRNA 和蛋白的表达,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。其中,模型组、阳和汤组、塞来昔布组的 BCL-2/BAX 蛋白表达比值显著低于空白组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),阳和汤组、塞来昔布组 BCL-2/BAX 蛋白表达比值显著高于模型组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。结论:阳和汤能修复软骨损伤,抑制关节软骨退行性改变,延缓骨关节炎病程进展,其机制可能与激活 PI3K/AKT 信号通路,促进 BCL-2 的表达,抑制 BAX 表达,上调 BCL-2/BAX 值,进而抑制软骨细胞凋亡有关。

**[关键词]** 骨关节炎;凋亡;阳和汤;磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B;软骨

**[中图分类号]** R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2022)08-0007-05

## Study on the Mechanism of Yanghe Decoction Regulating PI3K/AKT Signaling Pathway and Inhibiting Cartilage Degeneration in Osteoarthritis

GUI Miao<sup>1</sup> SHI Shanni<sup>1</sup> HUANG Zeling<sup>1</sup> HE Junjun<sup>1</sup> LI Tianhua<sup>1</sup> HONG Zhenqiang<sup>1,2,△</sup>

<sup>1</sup> Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China;

<sup>2</sup> Key Laboratory of Orthopedics & Traumatology and Rehabilitation of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Fuzhou 350122, China.

**Abstract Objective:** To explore the efficacy and related mechanism of Yanghe decoction on knee osteoarthritis based on PI3K/AKT/BCL2/BAX signaling pathway. **Methods:** 24 New Zealand white rabbits were randomly divided into 4 groups: blank group, model group, Yanghe decoction group and celecoxib group with 6 rabbits in each group. Except the blank group, the osteoarthritis model was established by injecting papain into the knee joint cavity. After modeling, the Yanghe decoction group and the celecoxib group were given Yanghe decoction and western medicine celecoxib respectively once a day for 4 consecutive weeks, while the blank group and the model group were not intervened. HE staining was used to observe the morphological changes of cartilage hierarchy in the knee joint of rabbits with osteoarthritis, and Mankin's scores

was modified. The protein and mRNA expressions of cartilage PI3K, AKT, BCL-2 and BAX were detected by Western Blot and RT-qPCR. **Results:** Compared with the blank group, the Mankin's scores of the model group was significantly higher ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, the Mankin's scores of the Yanghe decoction group

基金项目:福建中医药大学“中医脾胃优势特色学科”建设项目(X2019006-学科)

<sup>1</sup> 福建中医药大学(福州,350122)

<sup>2</sup> 中医骨伤及运动康复教育部重点实验室

<sup>△</sup>通信作者 E-mail:594710961@qq.com

and the celecoxib group was significantly lower ( $P < 0.01$ ). RT-qPCR and Western Blot results: Compared with the blank group, the expressions of PI3K, AKT, BCL-2 mRNA and protein in the model group were significantly lower ( $P < 0.01$ ), and the expressions of BAX mRNA and protein were significantly higher ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, the expressions of PI3K, AKT, BCL-2 mRNA and protein in Yanghe decoction group and celecoxib group were significantly higher ( $P < 0.05$ ), and the expressions of BAX mRNA and protein were significantly lower ( $P < 0.05$ ). Among them, the protein expression ratio of BCL-2/BAX in the model group, Yanghe decoction group and celecoxib group was significantly lower than that in the normal group ( $P < 0.01$ ), and the BCL-2/BAX protein expression in the Yanghe decoction group and celecoxib group was significantly lower than that in the normal group ( $P < 0.01$ ). The ratio of protein expression was significantly higher than that in the model group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Yanghe decoction can repair cartilage damage, inhibit the degenerative changes of articular cartilage, and delay the progression of osteoarthritis. Its mechanism may be related to activating PI3K/AKT signaling pathway, promoting the expression of BCL-2, inhibiting the expression of BAX, and up-regulating BCL-2/BAX value, thereby inhibiting chondrocyte apoptosis.

**Keywords:** osteoarthritis; apoptosis; Yanghe decoction; PI3K/AKT signaling pathway; cartilage

骨关节炎 (Osteoarthritis, OA) 是以软骨降解、软骨下骨重塑等病理改变的退行性全关节疾病<sup>[1]</sup>, 严重影响患者生活质量<sup>[2]</sup>。骨关节炎与多种因素相关, 核心是关节软骨退行性改变<sup>[3-4]</sup>。磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 信号通路调控软骨细胞凋亡, 是当前治疗骨关节炎新靶点<sup>[5]</sup>。阳和汤在临床骨关节炎患者中取得明显疗效<sup>[6-7]</sup>, 动物实验发现阳和汤能有效减轻关节滑膜炎症、改善膝关节功能, 延缓软骨退变<sup>[8-9]</sup>。但阳和汤作用于骨关节炎的分子机制尚不明确。因此通过实验观察阳和汤对于骨关节炎软骨组织的形态学改变及 PI3K/AKT 通路的影响, 探讨阳和汤对关节软骨保护的可能机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

4 月龄新西兰大白兔雄性 24 只, 体重为  $(2.0 \pm 0.5)$  kg, 购于上海斯莱克实验动物有限责任公司, 动物生产许可证号为 SCXK(沪)2019-0007, 委托福建中医药大学实验动物中心代购并饲养, 实验单位使用许可证编号为 SYXK(闽)2020-0003。

### 1.2 实验药物及试剂

阳和汤药物组成: 熟地黄 30 g, 肉桂 3 g, 麻黄 2 g, 鹿角胶 9 g, 白芥子 6 g, 姜炭 2 g, 生甘草 3 g, 购于福建中医药大学附属第三人民医院。塞来昔布为辉瑞制药有限公司产品。

按照 Meeh-Rubner 公式, 新西兰兔所需药物剂量 = 人所需药物剂量  $\times$  兔体表面积  $A$ ,  $A = K \times W^{2/3} \times 10^{-4}$ ,  $W$  为兔体重,  $K$  为常数 (家兔为 10, 人为 10.6)。课题组前期基于此公式将阳和汤分为低中高三个浓度进行动物骨关节炎实验研究, 结果显示中等剂量效果优于低剂量和高剂量, 因此本实验阳和汤剂量为中等剂量  $6 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 。

苏木精-伊红染色试剂盒 (北京索莱宝科技有限公

司, 批号为 G1120-3); 木瓜蛋白酶 (美国 Sigma 公司, 产品批号为 P8150); 增强型 RIPA 裂解液 (武汉博士德生物工程有限公司, 产品批号为 AR0102); 蛋白酶抑制剂 (武汉博士德生物工程有限公司, 产品批号为 AR1178); BCA 蛋白定量试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司, 产品批号为 AR0198); Tris-Glycine-SDS 电泳缓冲液 (武汉博士德生物工程有限公司, 产品批号为 AR0139); Western 专用一抗二抗稀释液 (武汉博士德生物工程有限公司, 产品批号为 AR1017)。

### 1.3 实验仪器

Western-Blot 基础电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司); 多功能酶标仪 (TECAN infinite M200 Pro); 实时荧光定量基因扩增仪 (美国 ABI 公司); 荧光定量 PCR 分析仪 (Eppendorf); 超微量紫外可见分光光度计 (杭州米欧仪器有限公司)。

### 1.4 方法

**1.4.1 动物分组及模型制备** 按照随机数字表法将 24 只新西兰大白兔随机分为四组, 每组各 6 只。正常组新西兰大白兔不予造模, 其余组在适应性喂养 1 周后, 在无菌条件下注射木瓜蛋白酶。提前用剃毛刀剃除双膝关节的兔毛, 用酒精棉球消毒 3 遍, 消毒范围超过髌骨上下缘, 屈曲兔子膝关节, 确定注射点为膝关节中部髌腱内侧或外侧缘处, 注射  $0.1 \text{ mL } 4\%$  木瓜蛋白酶溶液至关节腔, 注射完毕后, 再次消毒注射部位, 屈伸数次膝关节并置于空地跳动, 每 3 d 注射一次, 连续注射 3 次<sup>[10]</sup>。注射后兔子养于兔笼中, 不限制饮食与活动。

**1.4.2 干预方法** 造模结束后第 2 天, 开始给药干预, 根据体表面积换算法及课题组前期研究基础, 阳和汤组按  $6 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  灌胃, 塞来昔布组给予  $24 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  灌胃, KOA 模型组与空白对照组采取等量生理盐水灌胃。每日灌胃 1 次, 共给药 4 周。

**1.4.3 取材方法** 最后一次灌胃结束后,隔日取材,取材前动物准备:提前 12 h 禁食不禁水。提准备好相关实验器械,充分暴露膝关节囊,取下软骨组织,软骨组织固定流水冲洗后常规脱钙、包埋和切片。并在冰上刮取软骨组织,置于 EP 管中,迅速置于干冰箱内用于 RT-qPCR 和 Western Blot 检测。

**1.5 实验指标测定**

**1.5.1 软骨组织苏木精-伊红(HE)染色** 软骨组织经 4%多聚甲醛固定 48 h 后流水冲洗,常规脱钙、包埋和切片,HE 染色后脱水、透明、固封。光镜下观察并采集图像,进行改良 Mankin's 评分<sup>[11]</sup>。

表 1 PI3K、AKT、BCL-2、BAX 的基因引物序列

目的基因	上游引物	下游引物
PI3K	GAGGTCAAGCACTGTGTCAT	GCGAGGTGTGTTGGTAATGT
AKT	ACGCATTCCAGACCCATGAC	TACTCGAGAGCCGAGACGAT
BCL-2	TGGCCTTCTTTGAGTTCCGGT	GCCGTACAGTTCCACGAAGG
BAX	TACAGAGGATGATCGCTGCC	CCAGCGTCCAGCCCATAATA
GAPDH	CATCAAGAAGGTGGTGAAGCA	AGCATCGAAGGTAGAGGAGTG

**1.5.3 免疫印迹法(Western Blot)检测相关蛋白表达** 取软骨组织使用液氮研磨法制作组织匀浆并提取总蛋白,BCA 蛋白检测试剂盒测定蛋白浓度。根据测得的蛋白浓度、上样量及上样体积配制样品蛋白,进行蛋白变性。配制凝胶上样,进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜、封闭后,按照不同稀释比例滴加一抗,于 4℃冷库中的摇床上孵育过夜,洗膜,加二抗,洗膜,室温孵育 1 h,曝光、显影,设置 Image Lab 软件运行条件依次对条带进行成像,选取曝光恰当的图片进行保存和分析,并计算相应条带的灰度体积。

**1.6 统计学方法**

**1.5.2 实时荧光定量 PCR 法检测 mRNA 的含量** 采用液氮研磨法研磨 100 mg 的软骨组织,加入 1 mL 的 Trizol 匀浆,静置 5 min 加入 200 μL 的氯仿震荡,于 4℃离心机中 12 000 r/min 离心 5 min,抽取上层水相 500 μL,加入 500 μL 预冷的异丙醇匀浆后静置 10 min,于 4℃离心机中 12 000 r/min 离心 10 min,弃上清液保留沉淀,再加入 75%乙醇 1 mL,4℃离心机中 7 500 r/min 离心 5 min,弃上清液加 DEPC 水,使用核酸分析仪测 RNA 浓度及纯度。设计目的基因,反转录、扩增,以 GAPDH 为内参,2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算 mRNA 相对表达量。引物序列见表 1。

采用 SPSS25.0 统计软件进行数据分析。所有数据结果以  $\bar{x} \pm s$  形式表示。若各组数据均符合正态分布且方差齐,则使用单因素方差分析中 LSD 法进行各组间两两比较;若方差不齐,则采用 Games-Howell 法进行两两比较;若各组数据不完全符合正态分布,则采用多样本秩和检验进行两两比较。 $P < 0.05$  差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 软骨 HE 染色结果**

空白组软骨表面光滑,模型组表面受损、不平整;空白组细胞排列整齐,层次清晰,模型组排列紊乱,阳和汤组、塞来昔布组软骨表面不规整,见图 1。

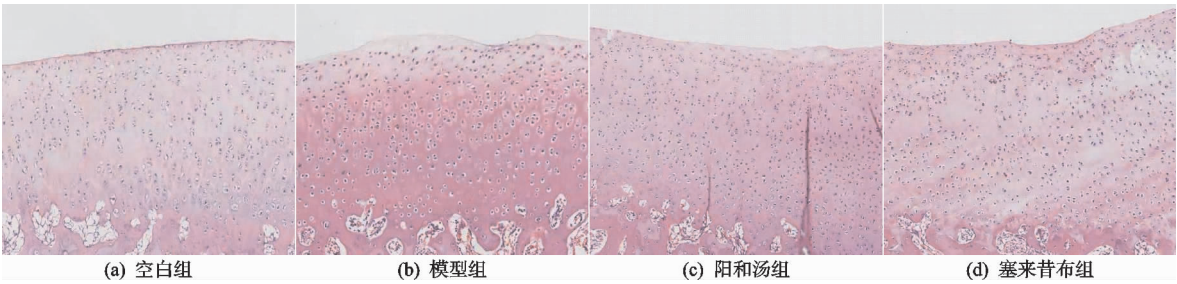


图 1 四组关节软骨 HE 染色图(×50)

**2.2 改良 Mankin's 评分**

根据改良 Mankin's 评分标准,与空白组相比,其他三组改良 Mankin's 评分显著升高,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。与模型组相比,阳和汤组和塞来昔布组 Mankin's 评分显著下降,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表 2。

表 2 四组新西兰兔改良 Mankin's 评分比较( $\bar{x} \pm s, n = 6$ , 分)

空白组	模型组	阳和汤组	塞来昔布组	F	P
0.833±0.307	7.333±0.307 <sup>1)</sup>	5.500±0.428 <sup>2)</sup>	5.833±0.801 <sup>2)</sup>	42.111	0.000 788

注:1)与空白组比较, $P < 0.01$ ;2)与模型组比较, $P < 0.01$ 。

**2.3 RT-qPCR 检测 KOA 软骨中 PI3K、AKT、BCL-2、BAX mRNA 表达水平**

与空白组比较,模型组显著下调 PI3K、AKT、

BCL-2 的表达,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),同时上调 BAX 的表达,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与模型组比较,阳和汤组和塞来昔布组上调了 PI3K、

AKT、BCL-2 的表达,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),下调 BAX 的表达,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 3 及图 2。

表 3 四组 PI3K、AKT、BCL-2、BAX mRNA 表达的比较( $\bar{x}\pm s,n=3$ )

组别	PI3K	AKT	BCL-2	BAX
空白组	1.015±0.119	1.017±0.137	1.032±0.171	1.022±0.144
模型组	0.138±0.004 <sup>1)</sup>	0.282±0.041 <sup>1)</sup>	0.161±0.051 <sup>1)</sup>	3.041±0.126 <sup>1)</sup>
阳和汤组	0.579±0.088 <sup>2)</sup>	0.524±0.106 <sup>3)</sup>	0.785±0.190 <sup>3)</sup>	2.321±0.176 <sup>3)</sup>
塞来昔布组	0.565±0.064 <sup>2)</sup>	0.438±0.055 <sup>3)</sup>	0.803±0.064 <sup>3)</sup>	2.161±0.236 <sup>2)</sup>
<i>F</i>	19.667	11.612	7.745	22.655
<i>P</i>	0.000 476	0.002 760	0.009 140	0.000 290

注:1)与空白组比较, $P<0.01$ ;与模型组比较,2) $P<0.01$ ,3) $P<0.05$ 。

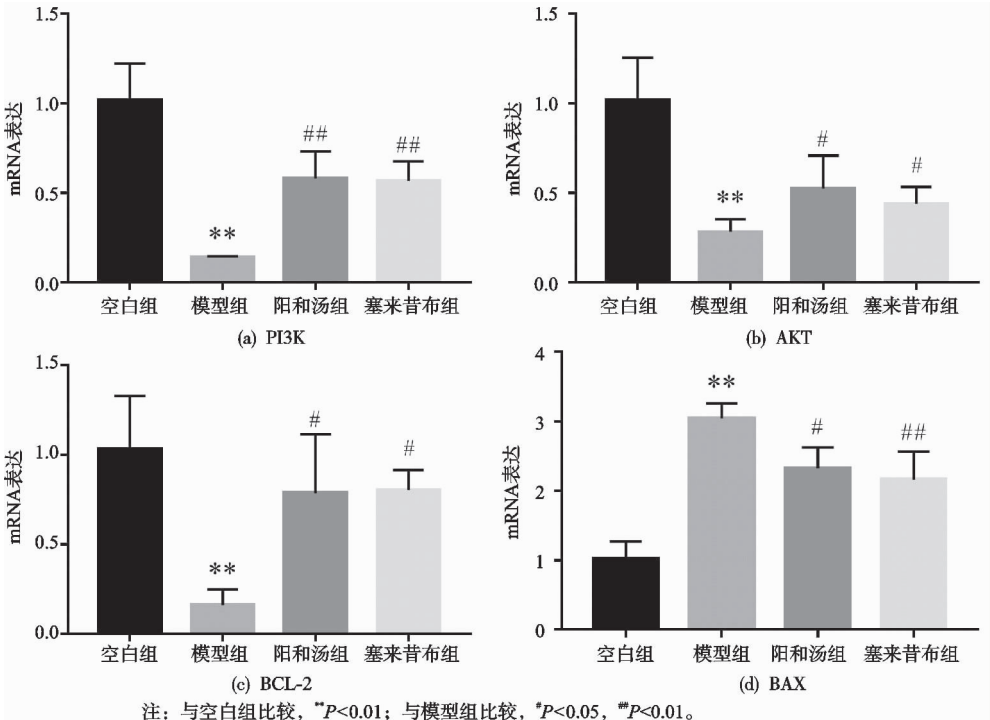


图 2 四组 PI3K、AKT、BCL-2、BAX mRNA 表达的比较

白表达显著减少,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),BAX 的蛋白表达显著升高,差异有统计学意义( $P<0.01$ );与模型组相比,阳和汤组和塞来昔布组 PI3K、AKT、

2.4 Western Blot 检测骨关节炎软骨中 PI3K、AKT、p-AKT、BCL-2、BAX 蛋白表达水平与空白组相比,模型组 PI3K、AKT、BCL-2 的蛋

BCL-2 的蛋白表达上升,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),BAX 的蛋白表达下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 4 及图 3。

表 4 四组 PI3K、AKT、p-AKT、BCL-2、BAX 蛋白表达的比较( $\bar{x}\pm s,n=3$ )

组别	PI3K/GAPDH	AKT/GAPDH	p-AKT/GAPDH	BCL-2/GAPDH	BAX/GAPDH
空白组	0.698±0.066	0.939±0.041	1.138±0.163	0.869±0.024	0.251±0.035
模型组	0.148±0.032 <sup>1)</sup>	0.213±0.011 <sup>1)</sup>	0.388±0.091 <sup>1)</sup>	0.215±0.050 <sup>1)</sup>	0.846±0.101 <sup>1)</sup>
阳和汤组	0.294±0.040 <sup>2)</sup>	0.435±0.060 <sup>2)</sup>	0.494±0.039	0.356±0.055 <sup>2)</sup>	0.623±0.066 <sup>2)</sup>
塞来昔布组	0.488±0.058 <sup>3)</sup>	0.663±0.069 <sup>2)</sup>	0.584±0.143	0.423±0.058 <sup>2)</sup>	0.405±0.060 <sup>2)</sup>
<i>F</i>	22.209	38.215	7.895	33.895	14.012
<i>P</i>	0.000 311	0.000 043	0.008 930	0.000 068	0.001 500

注:1)与空白组比较, $P<0.01$ ;与模型组比较,2) $P<0.05$ ,3) $P<0.01$ 。

2.5 BCL-2/BAX 蛋白表达比值

模型组、阳和汤组、塞来昔布组的 BCL-2/BAX 蛋白表达比值显著低于空白组,差异有统计学意义( $P<0.01$ );阳和汤组、塞来昔布组 BCL-2/BAX 蛋白表达

比值显著高于模型组,差异有统计学意义( $P<0.01$ ),见表 5。

3 讨论

骨关节炎属于“骨痹”“历节病”等范畴。正气亏虚

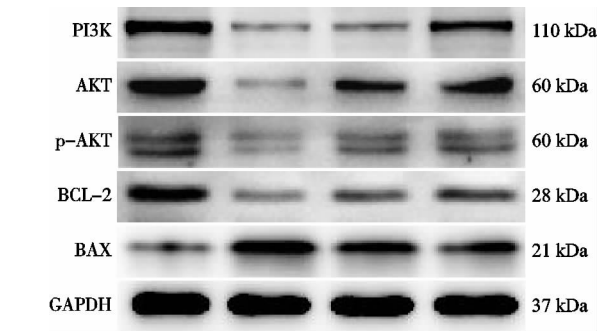


图 3 四组新西兰兔软骨组织 PI3K、AKT、p-AKT、BCL-2、BAX 蛋白条带显影

表 5 四组软骨组织 BCL-2/BAX 蛋白表达比值比较(±s,n=3)

空白组	模型组	阳和汤组	塞来昔布组	F	P
3.565±0.411	0.247±0.028 <sup>1)</sup>	0.564±0.031 <sup>2)</sup>	1.050±0.071 <sup>2)</sup>	51.730	0.000 140

注:1)与空白组比较,P<0.01;2)与模型组比较,P<0.01。

细胞凋亡是细胞死亡的重要形式之一,彭丹等<sup>[14]</sup>应用 TUNEL 标记法成功地复制 OA 的动物模型,动态观察发现,制动 1~6 周软骨细胞凋亡的发生呈增长趋势,并与光镜下软骨细胞的病理变化相符,表明软骨细胞凋亡贯穿骨关节炎发生发展的全过程当中。王会含等<sup>[15]</sup>通过建立骨关节炎软骨细胞模型发现,加入抑制软骨细胞凋亡药物,软骨细胞增殖加快,软骨细胞活力增加。Zhang 等<sup>[16]</sup>研究发现凋亡因子能够促进软骨细胞基质金属蛋白酶的表达,使胶原蛋白和蛋白多糖合成分泌减少,加速软骨损伤,并随凋亡因子增加,软骨细胞凋亡加快,骨关节炎软骨损伤加重。因此,软骨细胞凋亡是关节软骨退行性改变的重要病理因素<sup>[17]</sup>。PI3K/AKT 信号通路是抑制细胞凋亡、参与细胞增殖代谢的信号通路,活化的 PI3K 可催化膜表面的 PIP2,生成 PIP3 作为第二信使激活 PI3K 下游基因 AKT 转移至细胞膜引发一系列反应而起调控作用。通过多种细胞内外信号的调节及生长因子和细胞因子的调控,激活细胞中 PI3K,导致下游 AKT 磷酸化,信号通路级联反应发生。下游靶蛋白相互作用能调控细胞凋亡,最为突出的包括促凋亡蛋白(如 BAX)和抗凋亡蛋白(如 BCL-2),通过其不同结构域的改变,形成不同构型的同源或异源二聚体,从而决定发挥促凋亡或是抗凋亡的作用<sup>[18]</sup>。多种研究表明<sup>[19-20]</sup>,PI3K/AKT 信号通路与下游 BAX、BCL-2 因子的表达和软骨细胞的凋亡及骨关节炎病程的发生发展密切相关。

根据 HE 染色的结果及改良 Mankin's 评分结果显示,阳和汤组损伤程度低于模型组,在使用阳和汤治疗后,软骨损伤改善,说明阳和汤能有效延缓软骨组织退行性改变。实时荧光定量 PCR 与 Western Blot 结果显示,阳和汤组中 PI3K、AKT、BCL-2 mRNA 与蛋白表达均升高,BAX mRNA 与蛋白表达均降低,

是关键,邪气侵袭是发病的外在条件,闭阻不通是病理要点。阳和汤源自清代王洪绪《外科证治全生集》,方中使用熟地黄、鹿角胶为君药,作用于骨髓补虚温阳益精血。肉桂、炮姜合用温补脾肾之阳,通利血脉祛除肌表寒邪。白芥子、麻黄宣通腠理,甘草调和。使筋骨、脉、肉、皮、毛窍温煦,经络畅,气血通,则痹得愈。此方着眼于正气亏虚、邪气侵袭的核心病机,行以补阳散寒之功,标本兼之。临床研究表明<sup>[12-13]</sup>阳和汤治疗骨关节炎患者能够有效降低患者疼痛,改善患者功能,延缓病情进展的作用。

BCL-2/BAX 比值空白组、阳和汤组、塞来昔布组显著高于模型组。实验结果显示阳和汤能延缓软骨组织退行性改变与调控 PI3K/AKT 信号通路相关,并且与通路下游蛋白 BCL-2、BAX 含量和 BCL-2/BAX 比值相关。结果表明阳和汤能够通过调控 PI3K/AKT 信号通路,上调 BCL-2/BAX 比值,抑制骨关节炎模型兔软骨细胞凋亡,延缓软骨组织退行性改变。

综上所述,阳和汤能抑制关节软骨退行性改变,改善关节软骨形态结构,延缓骨关节炎病程进展,其机制可能与激活 PI3K/AKT 信号通路,促进 BCL-2 的表达,抑制 BAX 表达,上调 BCL-2/BAX 比值,进而抑制软骨细胞凋亡有关。但 PI3K/AKT 信号通路下游靶蛋白的相互作用是一个复杂过程,阳和汤如何通过调控 PI3K/AKT 信号通路及下游靶蛋白,进而抑制关节软骨退行性改变的具体机制仍需进一步研究。

参考文献

[1] GOFF ANTHONY J,ELKINS MARK R. Knee osteoarthritis[J]. Journal of Physiotherapy, 2021, 67 (4): 240-241.

[2] YANG R Z,ZHENG H L,XU W N,et al. Vascular endothelial cell-secreted exosomes facilitate osteoarthritis pathogenesis by promoting chondrocyte apoptosis [J]. Aging,2021,13(3):4647-4662.

[3] WANG Y Y,MENG T,RUAN G F,et al. Associations of blood pressure and arterial stiffness with knee cartilage volume in patients with knee osteoarthritis[J]. Rheumatology,2021,60(10):4748-4754.

[4] LI D,MIAO K S,ZHUANG C, et al. PI3K/Akt and caspase pathways mediate oxidative stress-induced chondrocyte apoptosis[J]. Cell Stress & Chaperones,2019,24 (1):195-202.

Engl J Med, 2020, 383(2):159-168.

- [14] MCCORMICK J R, SAMA A J, SCHILLER N C, et al. Cervical spondylotic myelopathy: a guide to diagnosis and management[J]. J Am Board Fam Med, 2020, 33(2):303-313.
- [15] 陈印磊, 夏建龙, 蔡平. 中医对脊髓型颈椎病的认识及治疗进展[J]. 中医药临床杂志, 2018, 30(10):1957-1961.
- [16] 贺丰, 穆晓红, 付玲玲, 等. 脊髓损伤的中医研究现状[J]. 世界中西医结合杂志, 2017, 12(3):440-444.
- [17] 孙岩, 占达, 谭明生. 从疏通督脉论治脊髓损伤[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2018, 26(2):64-66.
- [18] 嵇汉杰, 周英杰, 王少纯, 等. 从“督”论治脊髓型颈椎病[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2018, 26(2):57-60.
- [19] 沈忱, 陈卫平. 基于贝叶斯网络对《本草纲目》中活血化瘀类中药功效与药理间关系的研究[J]. 南京中医药大学学

报, 2015, 31(3):231-233.

- [20] 代引海, 肖刚, 邱春丽, 等. 黄芪注射液在胃癌化疗中的应用[J]. 陕西医学杂志, 2014, 43(2):246-247.
- [21] 马艳春, 吴文轩, 胡建辉, 等. 当归的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药学报, 2022, 50(1):111-114.
- [22] LIU B Y, SONG X L, YI J, et al. Buyang Huanwu Decoction reduces infarct volume and enhances estradiol and estradiol receptor concentration in ovariectomized rats after middle cerebral artery occlusion[J]. Chin J Integr Med, 2014, 20(10):782-786.
- [23] 周峻, 熊振成, 董春科, 等. 椎管减压联合补阳还五汤治疗脊髓型颈椎病的临床研究[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(2):135-139.

(收稿日期:2022-03-06)

(上接第 11 页)

- [5] ZHANG Q B, LAI S X, HOU X Y, et al. Protective effects of PI3K/Akt signal pathway induced cell autophagy in rat knee joint cartilage injury[J]. American Journal of Translational Research, 2018, 10(3):762-770.
- [6] 汤俊, 吴文虎, 倪卫祖. 阳和汤治疗轻中度疼痛膝关节炎临床疗效探讨[J]. 中国现代药物应用, 2014, 8(11):149-150.
- [7] 张艳君. 加味阳和汤治疗膝骨性关节炎的临床疗效观察[J]. 中国医药指南, 2016, 14(18):206-207.
- [8] 洪振强, 高弘建, 何俊君, 等. 阳和汤对兔膝关节炎木瓜蛋白酶模型 IL-1、TNF- $\alpha$  的影响[J]. 康复学报, 2020, 30(4):293-298.
- [9] 高伟华, 李玉杰, 杨鸿冉, 等. 加味阳和汤对膝骨性关节炎软骨细胞凋亡的影响研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2021, 29(1):1-5.
- [10] 何俊君, 黄泽灵, 洪振强. 阳和汤对早期膝骨关节炎模型兔滑膜炎的影响[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(5):694-699.
- [11] 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.
- [12] 谢求恩, 张雄, 徐永贵. 阳和汤对膝关节骨性关节炎患者血清及滑液中 HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 表达的影响研究[J]. 环球中医药, 2018, 11(3):458-461.
- [13] 黄高堂, 吴典捷, 刘燕芝, 阳和汤联合脐针治疗阳虚寒凝型膝关节炎疗效观察[J]. 中医临床研究, 2021, 13(16):44-46.
- [14] 彭丹, 孙材江, 周江南. 实验性骨关节病中软骨细胞的凋

亡[J]. 湖南医科大学学报, 1999(5):415-417.

- [15] 王会含, 王永堂, 苗建华, 等. 川芎嗪对人骨关节炎软骨细胞的影响及作用机制研究[J]. 中医正骨, 2021, 33(7):4-10.
- [16] ZHANG H, TANG W W, WANG S, et al. Tetramethylpyrazine inhibits platelet adhesion and inflammatory response in vascular endothelial cells by inhibiting P38 MAPK and NF- $\kappa$ B signaling pathways[J]. Inflammation, 2020, 43(1):286-297.
- [17] HUANG X S, GENG K, LUO S Y, et al. Mechanism of action of acupotomy in inhibiting chondrocyte apoptosis in rabbits with KOA through the PI3K/Akt signaling pathway[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2020:4241917.
- [18] LIN C X, SHAO Y, ZENG C, et al. Blocking PI3K/AKT signaling inhibits bone sclerosis in subchondral bone and attenuates post-traumatic osteoarthritis[J]. Journal of Cellular Physiology, 2018, 233(8):6135-6147.
- [19] HIRANORI M, TANAKA R, TATEISHI T, et al. Corrigendum to the human Bcl-2 family member Bcl-2 and voltage-dependent anion channels manifest a genetic interaction in drosophila and cooperatively promote the activation of effector caspases in human cultured cells [J]. Experimental Cell Research, 2021, 405(2):112711.
- [20] 李钢, 宋芸. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨参麦注射液干预退行性膝骨关节炎的机理研究[J]. 中华中医药学刊, 2021, 12(10):1-12.

(收稿日期:2022-04-01)