

· 实验研究 ·

温针灸对膝骨关节炎大鼠IL-1 β 、ADAMTS-7、MMP-3表达的影响[※]

李益军^{1*} 梁兴森² 方细霞¹ 肖文良¹ 陈璟昆¹ 谢美玲¹ 王华军³ 高彦平⁴ 李嘉⁵ 李玲^{5 Δ}

摘要 目的:探究温针灸对膝骨关节炎大鼠行为学、关节骨组织的影响及其作用机制。**方法:**将20只SD大鼠随机分为模型组及温针灸组各10只。两组大鼠均采用手术造模法制备膝骨关节炎模型,造模后模型组不予处理,温针灸组予膝前穴温针灸治疗。根据Lequesne MG评分标准,对大鼠分别于模型制备前、模型制备后2 w和治疗20 d后进行行为学检测,并通过micro-CT观察两组大鼠治疗20 d后软骨下骨的退变情况,采用ELISA法检测大鼠关节液中IL-1 β 、ADAMTS-7、MMP-3的含量;采用Western blot法检测膝关节软骨组织IL-1 β 、ADAMTS-7、MMP-3的含量;采用RT-qPCR检测大鼠软骨组织中IL-1 β 、ADAMTS-7、MMP-3的mRNA表达。**结果:**治疗20 d后,行为学检测发现,与模型组比较,温灸针组Lequesne MG评分明显降低($P<0.05$);micro-CT结果发现,温针灸组的BV/TV、Tb.Th、Tb.N上升,Tb.Sp降低,与模型组比较,差异具有统计学意义($P<0.05$);ELISA、Western blot检测结果显示,与模型组比较,温针灸组的关节软骨下骨损伤程度明显较低,温针灸组关节液、软骨组织中IL-1 β 、ADAMTS-7、MMP-3含量均降低($P<0.05$)。RT-qPCR结果显示与模型组比较,温针灸组IL-1 β 、ADAMTS-7、MMP-3的mRNA含量均降低($P<0.05$)。**结论:**温针灸能有效改善关节疼痛等症状,同时改善关节软骨下骨的损伤,并降低关节软骨组织IL-1 β 、ADAMTS-7、MMP-3等细胞因子对软骨细胞外基质的降解作用,起到保护软骨的作用。

关键词 温针灸;骨关节炎;软骨组织;炎症反应

膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是一种以关节软骨退变、软骨下骨重塑、骨赘形成、滑膜炎反应和血管生成为特征的慢性退行性疾病^[1-2]。流行病学调查表明,全球195个国家中约有30310.68万人患有髌、膝关节骨关节炎,同时KOA也对社会经济造成了巨大的负担,美国每年膝关节炎患者的医疗消耗约为8000万美元^[3]。在我国,KOA的发病率也常年居高不下,60岁以上人群患病率可达50%,75岁以上人群则达80%^[4]。对于骨关节炎晚期的患者只能行全膝关节置换手术,但有10%~20%的患者在手术后因疼

痛、僵硬、日常活动受限等原因感到不满^[5],因此,早期KOA的保守治疗方案越来越受到重视。现代医学对于早期KOA的治疗主要以控制体质量、运动、药物等为主^[6],但无法有效阻止疾病的进展,达不到预期效果^[7-8]。KOA在中医学属于“骨痹”范畴,温针灸作为中医学的重要组成部分,被广泛应用于早期骨关节炎的治疗,但对其有效性与优势,也有研究提出了保留意见^[9-10],尤其是其治疗机制的研究仍较少。本研究从动物实验的角度探究温针灸治疗KOA的有效性及其作用机制,以为临床方案的制定提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 健康雌性清洁级SD大鼠20只,体质量(210 \pm 10)g,所有大鼠分笼饲养,由专人负责管理。实验室定期消毒,环境温度(23 \pm 2) $^{\circ}$ C,相对湿度50%~70%。所有大鼠适应性饲养1 w后开始实验。按照随机数字表法将大鼠分为模型组与温针灸组,每组10只。本研究符合中国伦理委员会有关动物研究指导原则。

※基金项目 东莞市社会科技发展(重点)项目(No.202050715011167)

* 作者简介 李益军,男,副主任医师。主要从事颈肩腰腿痛的中西医结合临床研究。

Δ 通信作者 李玲,女,副主任医师。主要从事风湿骨病的临床研究。E-mail: Leeling245@163.com

• 作者单位 1.广东省东莞市石碣医院(广东 东莞 523290);2.广州体育学院门诊部(广东 广州 510500);3.暨南大学附属第一医院(广东 广州 510630);4.南方医科大学第三附属医院(广东 广州 510630);5.广东省人民医院(广东 广州 510080)

1.2 主要材料 艾粒(10 mm×15 mm, 0.7±0.07 g/粒, 南阳市卧龙汉医艾绒厂); 一次性无菌针灸针(0.30 mm×13 mm, 苏州医疗用品厂有限公司); IL-1β ELISA 试剂盒(Mreda, 批号: M149213-48T); MMP-3 ELISA 试剂盒(Mreda, 批号: MF16171-48T); ADAMTS-7 ELISA 试剂盒(Zokeyo, 批号: Y-97285-96T); IL-1β 抗体(Abcam, 批号: ab254360); ADAMTS-7 抗体(Abcam, 批号: ab201083); MMP-3 抗体(Abcam, 批号: ab52915); RIPA 裂解液(Elabscience, 批号: E-BC-R327)。

1.3 模型制备 采用改良 Hulth 法建立 KOA 模型^[11]。造模方法: 腹腔注射 2 mL/kg 戊巴比妥钠(30 g/L)麻醉大鼠, 于无菌条件下切除大鼠右膝内侧半月板及内侧副韧带, 术后向大鼠肌肉注射 20 U 青霉素以预防感染, 每天 1 次, 连续 3 d。模型制备后需等待 2 w 形成大鼠 KOA 模型, 造模成功后再进行干预。

1.4 干预方法

1.4.1 模型组 正常抓取、捆绑固定, 每天 1 次, 连续 20 d。

1.4.2 温针灸组 参照《实验动物针灸穴位图谱》^[12], 取膝前穴, 一次性针灸针针刺深度约 5 mm, 上下提插 3 次后, 将艾粒置于针柄处后点燃, 燃完起针, 每天 1 次, 连续 20 d。

1.5 观察指标

1.5.1 行为学评分 由同一位经过培训的医师, 从疼痛程度、步态改变、关节活动范围、关节肿胀度四个方面, 分别于模型制备前、模型制备后 2 w、治疗 20 d 后对大鼠进行行为学评测, 根据膝骨关节炎功能指数 Lequesne MG 量表^[13]进行评分, 分数越高说明症状越严重。

1.5.2 影像学指标 干预 20 d 后, 对两组大鼠做右侧膝关节 micro-CT 扫描。将大鼠麻醉固定于 micro-CT 床进行扫描, 之后借助 micro-CT 系统配套的软件对扫描数据进行结构重建, 利用三维旋转功能选取膝关节胫骨平台区域软骨下骨进行分析。骨组织分析指标: 骨体积分数(bone volume fraction, BV/TV)为皮质骨和松质骨骨量评价常用指标, 能够反映不同样本骨小梁骨量的多少, 该值增高说明骨合成代谢大于分解代谢, 骨量增加; 骨小梁厚度(trabecular thickness, Tb.Th)、骨小梁数量(trabecular number, Tb.N)、骨小梁分离度(trabecular separation, Tb.Sp), 上述三个指标是评价骨小梁空间形态结构的主要指标, 在骨合成代谢大于骨分解代谢时, Tb.N 和 Tb.Th 数值上升, Tb.Sp

数值下降。

1.5.3 酶联免疫吸附(ELISA)检测 IL-1β、ADAMTS-7、MMP-3 含量 治疗 20 d 后, 按照白细胞介素-1β(Interleukin-1β, IL-1β)、基质金属蛋白酶-3(matrix metalloproteinase-3, MMP-3)、聚蛋白多糖酶-7(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs-7, ADAMTS-7)的 ELISA 试剂盒上的操作方法使用 ELISA 检测大鼠关节液中的 IL-1β、ADAMTS-7、MMP-3 的含量。

1.5.4 蛋白免疫印迹(Western blot)检测 IL-1β、ADAMTS-7、MMP-3 含量 检测两组大鼠右侧膝关节软骨组织 IL-1β、ADAMTS-7、MMP-3 蛋白表达水平。摘取大鼠右侧膝关节, 剥离软骨组织并粉碎后, 再加 0.5 mL RIPA 裂解液没过软骨组织, 于 2 °C 下 15000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 对待测蛋白进行上样, 依次完成电泳、转膜、封闭及免疫印迹显色等步骤。采用 Image J 软件分析条带灰度值。以目的蛋白条带与 GAPDH 灰度比值表示蛋白相对表达水平。

1.5.5 实时荧光定量逆转录 PCR(Real-time qPCR, RT-qPCR)检测 IL-1β、ADAMTS-7、MMP-3 的 mRNA 表达 使用 RT qPCR 检测两组大鼠软骨组织中 IL-1β、ADAMTS-7、MMP-3 的 mRNA 表达。反应条件为: 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 30 s, 60 °C 退火 30 s, 延伸 90 s, 共 30 个循环。

1.6 统计学方法 用 SPSS 19.0 软件进行数据分析, 计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 采用 *t* 检验进行比较, 以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 行为学检测结果 模型制备前两组大鼠 Lequesne MG 评分比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05)。模型制备后 2 w, 模型组、温针灸组 Lequesne MG 评分较之前升高(*P*<0.05), 说明 KOA 大鼠造模成功。治疗 20 d 后, 两组 Lequesne MG 评分明显降低(*P*<0.05), 且与模型组比较, 温针灸组的 Lequesne MG 评分更低(*P*<0.05)。见表 1。

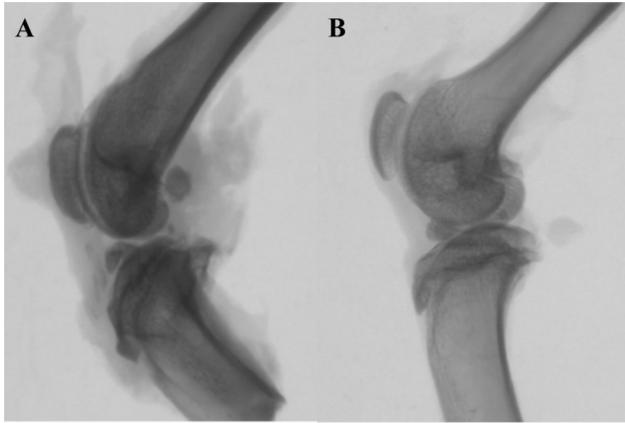
2.2 影像学检测结果 治疗 20 d 后, 观察两组大鼠胫骨平台软骨下骨情况, 结果显示模型组大鼠软骨下

表 1 两组大鼠 Lequesne MG 评分结果比较($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	模型制备前	模型制备后 2 w	治疗 20 d 后
模型组	0.60±0.70	9.00±0.94 ^①	6.50±1.58 ^②
温针灸组	0.60±0.70	8.90±1.20 ^①	8.20±1.14 ^{②③}

注: 与制备前比较, ^①*P*<0.05; 与治疗前比较, ^②*P*<0.05; 与模型组比较, ^③*P*<0.05

骨损伤较温针灸组明显,见图1。骨组织分析结果显示,与模型组比较,温针灸组的BV/TV、Tb.Th、Tb.N上升,Tb.Sp降低,两组差异具有统计学意义($P<0.05$),见表2。



A. 模型组; B. 温针灸组

图1 micro-CT扫描两组大鼠胫骨平台软骨下骨情况

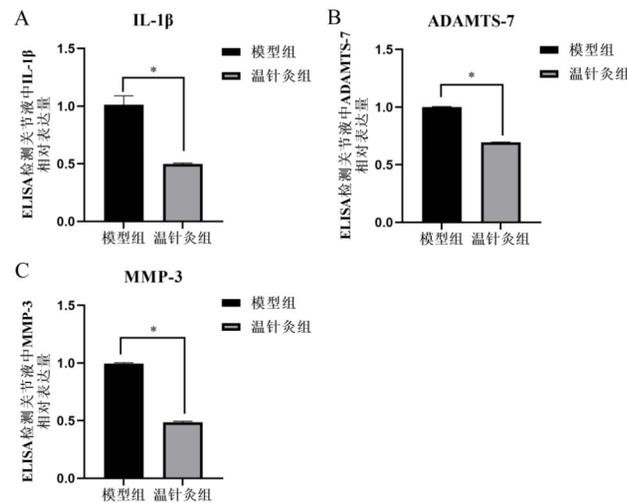
表2 两组大鼠膝关节骨组织分析结果比较($\bar{x} \pm s$)

指标	模型组	温针灸组
BV/TV(%)	33.07±2.06	49.36±1.29 ^①
Tb.Th(μm)	69.62±1.36	78.36±2.36 ^①
Tb.N(mm ⁻¹)	5.02±0.33	6.53±0.16 ^①
Tb.Sp(μm)	118.25±1.66	102.89±1.69 ^①

注:与模型组比较,^① $P<0.05$

2.3 ELISA 检测结果 治疗20 d后,与模型组比较,温针灸组关节液中IL-1β、ADAMTS-7、MMP-3含量均降低($P<0.05$)。见图2。

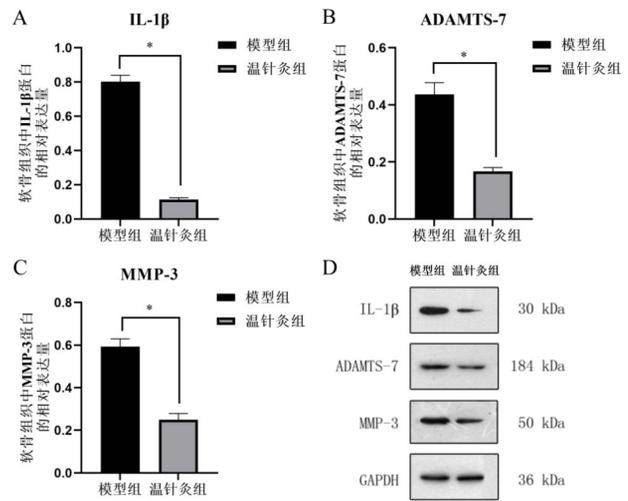
2.4 Western blot 检测结果 治疗20 d后,与模型



A.IL-1β的表达情况;B.ADAMTS-7的表达情况;C.MMP-3的表达情况。^{*} $P<0.05$

图2 ELISA检测两组大鼠膝关节液IL-1β、ADAMTS-7、MMP-3的表达情况

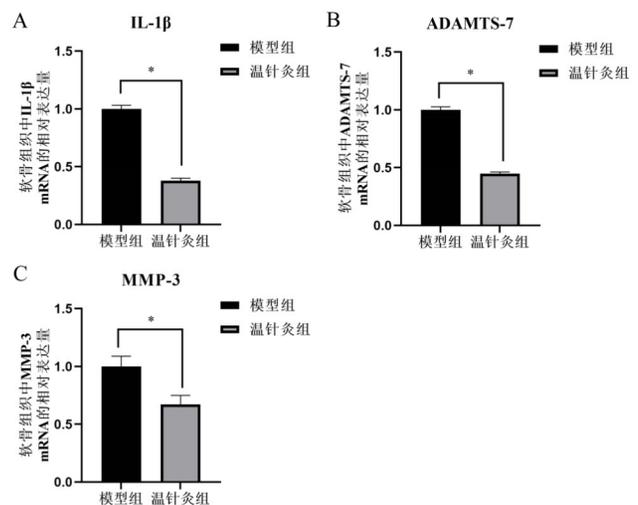
组比较,温针灸组大鼠软骨组织中IL-1β、ADAMTS-7、MMP-3含量均降低($P<0.05$)。见图3。



A.IL-1β的表达情况;B.ADAMTS-7的表达情况;C.MMP-3的表达情况;D.IL-1β、ADAMTS-7、MMP-3蛋白表达的条带图。^{*} $P<0.05$

图3 Western blot检测两组大鼠膝关节软骨组织中IL-1β、ADAMTS-7、MMP-3的表达情况

2.5 RT qPCR 检测结果 治疗20 d后,与模型组比较,温针灸组IL-1β、ADAMTS-7、MMP-3的mRNA含量均降低($P<0.05$)。见图4。



A.IL-1β mRNA的表达情况;B.ADAMTS-7 mRNA的表达情况;C.MMP-3 mRNA的表达情况。^{*} $P<0.05$

图4 RT qPCR检测两组大鼠膝关节软骨组织中IL-1β、ADAMTS-7、MMP-3的mRNA表达情况

3 讨论

近年来,温针灸广泛应用于KOA的治疗,大部分研究认为其在镇痛、恢复关节功能等方面具有很好的疗效^[14]。何敏昌等^[15]研究发现,相较于传统口服药物治疗,温针灸治疗KOA可以改善患者的骨关节炎指

数,增加膝关节屈曲度。但也有研究^[10]认为温针灸在与传统针刺、电针的比较中,总有效率并没有区别。部分回顾性研究指出,对于温针灸的治疗效果,仍需要更多高质量的研究进一步验证^[16-17]。与此同时,关于温针灸治疗骨关节炎的动物实验逐渐受到重视。王永超等^[18]对温针灸治疗前后的大鼠进行行为学检测,利用局部疼痛度和关节肿胀程度两个指标评价温针灸的治疗效果。本研究通过 Lequesne MG 量表评分,观察 KOA 大鼠在温针灸治疗后疼痛程度、步态改变、关节活动范围、关节肿胀程度四个指标的改善程度,结果表明温针灸确实可以改善 KOA 的症状,疗效确切。

骨关节炎主要是以关节内异常的炎症反应及软骨等组织的破坏为主要病理表现。软骨细胞赖以生存的软骨细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的合成与降解失衡是导致软骨退变的重要原因之一^[9]。其中 ADAMTS 和 MMPs 与 ECM 退变密切相关。软骨寡聚基质蛋白(cartilage oligomeric matrix protein, COMP)作为软骨细胞中重要的非胶原成分,可以维持软骨的稳定性^[20]。骨关节炎发病时关节软骨组织中的 ADAMTS-7 明显提高,可以消化分解 COMP,进而导致软骨细胞 ECM 的破坏,导致软骨组织受损^[21]。研究^[22]表明,ADAMTS-7 对于软骨细胞的分化及软骨形成具有抑制作用,认为可以通过抑制 ADAMTS-7 从而治疗骨关节炎。周逸敏^[23]研究发现,强骨宝汤可通过抑制 ADAMTS-7 的表达,减少 COMP 的降解,稳定软骨细胞外基质内环境,从而有利于 KOA 的修复。罗素娟^[24]发现,消骨痛汤可通过抑制“ADAMTS-7-COMP 降解-细胞外基质稳定性下降”达到治疗骨关节炎的目的。由此可见,ADAMTS-7 的上调是 KOA 中促进软骨损伤、阻碍软骨修复的重要因子,同时也为骨关节炎治疗提供了新的思路。然而,目前温针灸治疗骨关节炎的研究中,还未有人关注过 ADAMTS-7 的变化。

MMPs 家族构成了细胞外基质降解最重要的蛋白水解系统,其中 MMP-3 是基质溶解素中的重要成分,在 KOA 的不同病理时期均有表达,可促进软骨组织的退变^[25]。林如意等^[26]研究证明,温针灸可以降低患者血清中 MMP-3 的表达。本研究结果表明,与模型组比较,温针灸组关节液、软骨组织中 ADAMTS-7、MMP-3 含量均降低,差异均具有统计学意义($P < 0.05$),说明温针灸可以通过降低 ADAMTS-7 以及 MMP-3 的表达,延缓软骨细胞外基质的破坏,从而起

到保护关节软骨的作用,进而延缓骨关节炎的发生、发展。炎症反应作为骨关节炎的主要病理机制,抑制炎症反应对于疾病的治疗有着重要意义。大量研究发现,IL-1 β 在 KOA 患者关节软骨中表达增加^[27],IL-1 β 是重要的促炎细胞因子,可加重关节内的炎症反应,还可以促进 ADAMTS-7、MMP-3 的表达^[28-29],在骨关节炎发病过程中参与关节软骨的损伤及破坏。夏循富等^[30]研究发现,通过温针灸治疗,关节炎患者关节滑液中 IL-1 β 含量降低,与治疗前比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。但其检测手段单一,检测结果不够直观。而本研究通过多种检测方法,证明温针灸确实可以有效降低骨关节炎中 IL-1 β 的表达。总之,本研究获取大鼠关节软骨和关节液等标本,通过 ELISA 检测、Western blot、RT qPCR 等方法,验证了温针灸可以同时降低 ADAMTS-7、MMP-3、IL-1 β 的表达,从多方位起到对骨关节炎中软骨组织退变的延缓作用。

KOA 的病变不仅仅累及软骨,软骨下骨同样会发生改变。关节活动依赖于正常的解剖结构,早期 KOA 软骨下骨多以软骨下骨的吸收为主,表现为骨体积减小,可以出现应力性微骨折^[31]。软骨下骨结构改变可导致膝关节生物力学特性发生变化,从而引发并加重 KOA。有研究^[32]表明,软骨下骨与软骨之间存在生物化学交流,这种交流调控在 KOA 病程中发挥至关重要的作用。由此可见,保护软骨下骨对 KOA 的治疗至关重要。戴焱等^[33]发现,青娥方可以通过保护关节软骨下骨,调节软骨下骨组织骨小梁各项指标,改善骨代谢,延缓早期软骨下骨丢失,防治骨性关节炎。柴毅^[34]研究发现,左归丸可改善骨关节炎软骨下骨、软骨病变,促进软骨下骨形成,抑制骨吸收,有助于恢复骨重建平衡,提高骨密度,具有修复软骨下骨的作用。如今,软骨下骨的保护在骨关节炎的治疗中愈发受到重视,然而目前关于温针灸对骨关节炎软骨下骨影响的研究较少。马遇原等^[35]通过切片观察到,模型组软骨下骨受损严重,软骨下骨中细胞排列紊乱,大小、密度不均,而温针灸组较模型组软骨下骨细胞分布较均匀。朱仕强等^[36]通过病理切片染色观察后发现,温针灸治疗可以使得软骨下骨的骨小梁面积百分数、骨小梁数目明显升高,骨小梁弥散度明显降低。

从本研究大鼠膝关节 micro-CT 的扫描结果可以看出,模型组大鼠软骨下骨损伤破坏较为明显,而温针灸组大鼠软骨下骨的形态较为规整,较模型组破坏程度明显降低。从骨组织分析发现,与模型组比较,温针灸组大鼠软骨下骨的骨体积分数、骨小梁厚度、

骨小梁数量均有所上升,而骨小梁分离度有所下降,差异具有统计学意义($P<0.05$),提示温针灸可以在一定程度上缓解大鼠膝关节软骨下骨的破坏。由此可见,温针灸不仅可以保护软骨,同时可以改善膝关节炎早期软骨下骨的损伤,延缓疾病的发生和发展。

综上所述,温针灸能够有效改善关节疼痛等症状,同时改善关节软骨下骨的破坏,降低关节软骨组织IL-1 β 、ADAMTS-7、MMP-3等细胞因子对软骨的降解作用,使KOA的症状得以改善。

参考文献

[1] CORYELL P R, DIEKMAN B O, LOESER R F. Mechanisms and therapeutic implications of cellular senescence in osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2021, 17(1): 47-57.

[2] KUMAR A, PALIT P, THOMAS S, et al. Osteoarthritis: Prognosis and emerging therapeutic approach for disease management [J]. *Drug Dev Res*, 2021, 82(1): 49-58.

[3] PEAT G, THOMAS M J. Osteoarthritis year in review 2020: epidemiology & therapy [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2021, 29(2): 180-189.

[4] 许成燕, 陈军香, 王教明, 等. 中国人群膝关节炎危险因素 Meta 分析 [J]. *中国循证医学杂志*, 2021, 21(7): 772-778.

[5] 朱峰峰, 董博, 袁普卫, 等. 小针刀疗法治疗早期膝关节炎的临床研究 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2019, 28(31): 3421-3425.

[6] NOBLE P C, CONDITT M A, COOK K F, et al. The John Insall Award: Patient expectations affect satisfaction with total knee arthroplasty [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2006, 452(452): 35-43.

[7] 喻敏航. 关节腔内注射玻璃酸钠与富血小板血浆治疗膝骨关节炎效果比较 [J]. *中国乡村医药*, 2021, 28(12): 10-11.

[8] 郑军玲, 党晓红. 玻璃酸钠膝关节腔注射治疗膝骨关节炎的临床效果和护理 [J]. *山西医药杂志*, 2021, 50(8): 1350-1352.

[9] YU H, WANG Y, GUO Y, et al. Quality assessment of randomized controlled trials reporting on knee osteoarthritis treated with warming needle moxibustion [J]. *J Tradit Chin Med*, 2014, 34(5): 621-626.

[10] 张继伟, 邓强, 杨镇源, 等. 温针灸治疗膝骨关节炎随机对照试验 Meta 分析 [J]. *中医药临床杂志*, 2018, 30(11): 2049-2054.

[11] HAYAMI T, FUNAKI H, YAOEDA K, et al. Expression of the cartilage derived anti-angiogenic factor chondromodulin-1 decreases in the early stage of experimental osteoarthritis [J]. *J Rheumatol*, 2003, 30(10): 2207-2217.

[12] 程冕, 张雪, 史阳琳, 等. 实验大鼠和小鼠穴位定位的研究概况 [J]. *上海针灸杂志*, 2021, 40(5): 640-646.

[13] 黄娜, 赵娜. 温针灸对膝骨关节炎大鼠滑膜组织肿瘤坏死因子水平及软骨中 Wnt3a、 β -catenin 蛋白表达影响的研究 [J]. *新中医*, 2020, 52(3): 124-127.

[14] 叶国平, 苏美玲, 吴明霞, 等. 不同壮数温针灸对膝骨性关节炎疗效及关节腔积液的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(9): 4312-4316.

[15] 何敏昌, 谢相智. 温针灸治疗膝骨性关节炎的临床效果研究 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2021, 29(S1): 218-220.

[16] 黄泽灵, 施珊妮, 何俊君, 等. 温针灸治疗阳虚寒凝型膝骨关节炎疗效 Meta 分析及选穴规律研究 [J]. *康复学报*, 2021, 31(4): 341-350.

[17] 欧阳俊杰, 刘子风, 吴艳, 等. 温针灸治疗膝骨性关节炎临床疗效的 Meta 分析 [J]. *湖南中医杂志*, 2018, 34(4): 128-129.

[18] 王永超, 丁立佼, 王婷, 等. 温针灸对膝骨关节炎 SD 模型大鼠软骨中 TNF- α 和 MMP-3 的影响 [J]. *光明中医*, 2017, 32(13): 1879-1880.

[19] SOOK H H, AH K H. Chondrocyte apoptosis in the pathogenesis of osteoarthritis [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(11): 26035-26054.

[20] LIU C-J, KONG W, ILALOV K, et al. ADAMTS-7: a metalloproteinase that directly binds to and degrades cartilage oligomeric matrix protein [J]. *FASEB J*, 2006, 20(7): 988-990.

[21] ZHANG Y, WEI F, LIU C J. Overexpression of ADAMTS-7 leads to accelerated initiation and progression of collagen-induced arthritis in mice [J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 404(1): 171-179.

[22] KELWICK R, DESANLIS I, WHEELER G N, et al. The ADAMTS (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs) family [J]. *Genome Biol*, 2015, 16(11): 113.

[23] 周逸敏. 强骨宝对疲劳性大鼠膝骨关节炎关节软骨的作用机制 [D]. 福州: 福建中医药大学, 2019.

[24] 罗素娟. 消骨痛汤对大鼠膝骨关节炎 ADAMTS-7 表达的影响 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2010.

[25] MEHRABAN F, LARKM W, AHMED F N, et al. Increased secretion and activity of matrix metalloproteinase-3 in synovial tissues and chondrocytes from experimental osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 1998, 6(4): 286-294.

[26] 林如意, 孙定炯, 叶锐, 等. 温针灸治疗膝骨关节炎的效果及对 OPG、MMP-3 水平的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2019, 37(6): 1485-1487.

[27] CHEN Y L, YAN D Y, WU C Y, et al. Maslinic acid prevents IL-1 β -induced inflammatory response in osteoarthritis via PI3K/AKT/NF- κ B pathways [J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(3): 1939-1949.

[28] PÉREZ-GARCÍA S, CARRIÓN M, VILLANUEVA-ROMERO R, et al. Wnt and RUNX2 mediate cartilage breakdown by osteoarthritis synovial fibroblast-derived ADAMTS-7 and -12 [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(6): 3974-3983.

[29] 龚忠诚. 白细胞素家族促炎细胞因子在骨关节病中的研究进展 [J]. *新疆医科大学学报*, 2019, 42(7): 852-855.

[30] 夏循富, 房显辉, 金远林, 等. 温针治疗膝骨关节炎疗效观察及对关节滑液中 IL-1 β 、TNF- α 的影响 [J]. *上海针灸杂志*, 2018, 37(4): 453-456.

[31] 郭洁梅, 陈鹏, 肖艳, 等. 软骨下骨重塑与骨关节炎综述 [J]. *福建中医药*, 2021, 52(1): 54-57.

[32] 曾锦全, 柯俊杰. 软骨下骨病变在骨关节炎发病机制中的作用 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2020, 42(7): 1255-1262.

[33] 戴焱, 范彦博, 赵雅靓, 等. 青娥方对骨质疏松骨关节炎模型鼠早期软骨下骨基质金属蛋白酶 3 和骨桥蛋白表达的影响 [J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2020, 28(10): 1-5, 9.

[34] 柴毅. 左归丸调控 NPY 干预软骨-软骨下骨信号交互防治绝经后骨关节炎的效应机制研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2020.

[35] 马遇原, 刘娣, 刘君伟, 等. 温针灸对膝骨性关节炎软骨下骨中 OPG、RANKL 蛋白表达的影响 [J]. *宁夏医科大学学报*, 2020, 42(7): 683-687.

[36] 朱仕强, 许建峰, 黑晓燕, 等. 内热针干预膝骨性关节炎兔软骨下骨 I 型胶原、基质金属蛋白酶 3 和骨桥蛋白的表达 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(17): 2636-2642.

(收稿日期: 2022-04-16)

(本文编辑: 黄明愉)