

基于 NLRP3/IL-1 β 通路探讨筋骨止痛凝胶治疗膝骨性关节炎的作用机制

彭红玉¹, 刘 婧², 李 璐², 苏真真², 张新庄², 曹 亮², 王振中², 章晨峰², 肖 伟^{1,2*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210000

2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222000

摘要: 目的 基于核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NOD-like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3) / 白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 通路探讨筋骨止痛凝胶改善膝骨性关节炎大鼠膝关节炎症、疼痛的作用和机制。方法 70 只雄性 SD 大鼠随机分为对照组, 模型组, 筋骨止痛凝胶高、中、低剂量 (1.24、0.62、0.31 g/kg) 组, 扶他林 (0.105 g/kg) 组和青鹏膏 (0.105 g/kg) 组, 每组 10 只。对照组大鼠左膝关节腔注射 50 μ L 无菌生理盐水, 其余各组注射 40 mg/mL 单碘乙酸钠建立膝骨性关节炎大鼠模型, 造模后 1 d 开始给药, 持续 14 d。测定各组大鼠机械痛阈值 (paw withdrawal mechanical threshold, PWT)、热刺激缩足反射潜伏期 (paw withdrawal thermal latency, PWTL) 及足负重; 采用苏木素-伊红 (HE) 染色观察膝关节滑膜组织病理情况; 采用 ELISA 检测血清中 IL-1 β 、前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂) 及关节液中 IL-1 β 水平; 采用 qRT-PCR 检测滑膜组织中 IL-1 β 、PGE₂ 和 NLRP3 mRNA 表达。结果 与模型组比较, 各给药组大鼠 PWT、PWTL 和足负重均显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01); 筋骨止痛凝胶低剂量组、扶他林组和青鹏膏组滑膜组织病理学评分显著降低 ($P < 0.01$); 筋骨止痛凝胶高剂量组血清和关节液中 IL-1 β 水平均明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 筋骨止痛凝胶低、中剂量组和青鹏膏组血清中 PGE₂ 水平明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); 筋骨止痛凝胶低剂量组和扶他林组滑膜组织中 IL-1 β mRNA 表达水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 筋骨止痛凝胶低、中剂量组及扶他林组和青鹏膏组 PGE₂ 和 NLRP3 mRNA 表达水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结论 筋骨止痛凝胶可能通过调控 IL-1 β 、PGE₂、NLRP3 炎症因子的表达, 抑制滑膜炎进展, 从而发挥抗膝骨性关节炎的作用。

关键词: 筋骨止痛凝胶; 膝骨性关节炎; 滑膜炎; 镇痛; 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3/白细胞介素-1 β 通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2023)08-2502-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.08.017

Mechanism of Jingu Zhitong Gel in treatment of knee osteoarthritis based on NLRP3/IL-1 β pathway

PENG Hong-yu¹, LIU Jing², LI Lu², SU Zhen-zhen², ZHANG Xin-zhuang², CAO Liang², WANG Zhen-zhong², ZHANG Chen-feng², XIAO Wei^{1,2}

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222000, China

Abstract: Objective To explore the effect and mechanism of Jingu Zhitong Gel (筋骨止痛凝胶) on knee joint inflammation and pain in rats with knee osteoarthritis (KOA) based on NOD-like receptor family pyrin domain containing 3 (NLRP3)/interleukin-1 β (IL-1 β) pathway. **Methods** Seventy male SD rats were randomly divided into control group, model group, Jingu Zhitong Gel high-, medium- and low-dose (1.24, 0.62, 0.31 g/kg) groups, voltarin (0.105 g/kg) group and Qingpeng Ointment (青鹏膏, 0.105 g/kg) group, with 10 rats in each group. Rats in control group were injected with 50 μ L sterile physiological saline into left knee joint cavity, while rats in other groups were injected with 40 mg/mL sodium monoiodide to establish a rat model of KOA. Drugs were given 1 d after the model was established and lasted for 14 d. The mechanical pain threshold (PWT), paw withdrawal thermal latency (PWTL) and foot load of rats in each group were measured. HE staining was used to observe the pathological changes of synovial tissue of knee joint. The levels of IL-1 β and prostaglandin E₂ (PGE₂) in serum and IL-1 β in joint fluid were detected by ELISA. The expressions of IL-1 β ,

收稿日期: 2023-02-15

基金项目: 2021 年国家中医药管理局岐黄学者项目

作者简介: 彭红玉, 女, 硕士研究生, 从事药理学机制研究。E-mail: 279428117@qq.com

*通信作者: 肖 伟, 中国工程院院士, 博士生导师, 研究员, 从事中药新药的研究及过程控制研究。E-mail: kanionlunwen@163.com

PGE₂ and *NLRP3* mRNA in synovial tissue were detected by qRT-PCR. **Results** Compared with model group, PWT, PWTL and foot load of rats in each group were significantly increased ($P < 0.05, 0.01$). The histopathological scores of synovium in Jingu Zhitong Gel low-dose group, votaline group and Qingpeng Ointment group were significantly decreased ($P < 0.01$). The levels of IL-1 β in serum and joint fluid in Jingu Zhitong Gel high-dose group were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), and level of *PGE₂* in serum in Jingu Zhitong Gel low-, medium-dose groups and Qingpeng Ointment group were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$). The expression level of *IL-1 β* mRNA in synovial tissue of Jingu Zhitong Gel low-dose group and votaline group were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$), while the expression levels of *PGE₂* and *NLRP3* mRNA in Jingu Zhitong Gel low-, medium-dose groups, votaline group and Qingpeng Ointment group were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Jingu Zhitong Gel may inhibit the progress of synovitis by regulating the expressions of IL-1 β , *PGE₂* and *NLRP3* inflammatory factors, thus playing an anti-KOA role.

Key words: Jingu Zhitong Gel; knee osteoarthritis; synovial inflammation; analgesia; NOD-like receptor family pyrin domain containing 3/IL-1 β pathway

膝骨性关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是以膝关节软骨退行性变和继发性骨质增生为特征,且进展缓慢、无法治愈的慢性关节病^[1]。现代医学认为 KOA 发病机制为软骨退化,滑膜炎症,神经疼痛,血管生成^[2]。传统医学称其为“骨痹”,认为其发生是由肝肾亏虚、气滞血瘀以及风、寒、湿邪所致^[3]。早期研究 KOA 机制中,软骨退化是主要关注点,滑膜炎被认为是关节炎早期发生的继发性改变。随着对 KOA 研究的不断深入,发现滑膜炎症可以直接导致软骨结构改变,影响关节腔内环境^[4-6]。

筋骨止痛凝胶源于中国中医研究院骨科专家孙树椿教授临床经验方,是在清代御医方“骨伤膝药”的基础上加减化裁而来,临床治疗 KOA 疗效显著^[7]。筋骨止痛凝胶是由醋延胡索、川芎、威灵仙、伸筋草、东北透骨草、路路通、海桐皮、防风、花椒、薄荷脑、冰片和牛膝 12 味药材组成的外用凝胶剂,具有活血理气、祛风除湿、通络止痛的功效,主要用于 KOA 症状的改善^[8]。本研究初步考察了筋骨止痛凝胶治疗 KOA 大鼠滑膜炎症及疼痛的作用机制。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 70 只,体质量 160~180 g,购自杭州医学院,动物质量合格证号 20220913Aazz0100000106,许可证编号 SCXK(浙)2019-0002。动物于温度(23±2)℃、相对湿度(60±10)%的动物房,适应性饲养 7 d。动物实验方案经江苏康缘药业股份有限公司机构动物护理与使用委员会批准(批准号 2022102703)。

1.2 药品与试剂

筋骨止痛凝胶(批号 220109)由江苏康缘药业股份有限公司提供;扶他林软膏(批号 X63V)购自北京诺华制药有限公司;青鹏软膏(批号 2203072)

购自西藏奇正藏药股份有限公司;单碘乙酸钠(monosodium iodoacetate, MIA, 质量分数≥98%,批号 SLBZ7569)购自美国 Sigma-Aldrich 公司;4%多聚甲醛溶液(批号 20220913)购自南京森贝伽生物科技有限公司;大鼠白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) ELISA 检测试剂盒(批号 20221107)、大鼠前列腺素 E₂(prostaglandin E₂, *PGE₂*) ELISA 检测试剂盒(批号 20220628)购自南京建成生物工程研究所,分别用于关节液 IL-1 β 和血清 *PGE₂* 检测;大鼠 IL-1 β ELISA 检测试剂盒(批号 900103)购自美国 Novus 公司,用于血清 IL-1 β 检测;Takara MiniBEST 通用 RNA 提取试剂盒(批号 AM31529A)、逆转录试剂盒(批号 AL21115A)、荧光定量 PCR 试剂盒(批号 AM11195A)购自宝日医生物技术(北京)有限公司。

1.3 仪器

PH-200 型双足平衡测痛仪(成都泰盟仪器有限公司);38450 型电子测痛仪(意大利 Ugo Basile 公司);YLS-6B 型热痛仪(济南益延科技发展有限公司);YS-MBY-01 型 SpectraMax M2 酶标仪(上海艾研生物科技有限公司);840-317500 型 NanoDrop 微体积分光光度计、A28132 型实时荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);T100 型热循环仪(美国 Bio-Rad 公司);BY-R20 型离心机(北京白洋医疗器械有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模与给药

SD 大鼠随机分为对照组,模型组,筋骨止痛凝胶高、中、低剂量(1.24、0.62、0.31 g/kg,分别相当于临床剂量的 4、2、1 倍)组,扶他林(0.105 g/kg,临床等效剂量)组和青鹏膏(0.105 g/kg,临床等效剂量)组,每组 10 只。参照文献方法^[9]制备 KOA

模型,大鼠剃去左膝关节周围的毛发,75%乙醇消毒后,使用胰岛素注射器在左膝关节髌骨外侧处注射 50 μ L MIA 溶液(40 mg/mL),对照组大鼠注射 50 μ L 无菌生理盐水。造模 1 d 后开始给药,各给药组左膝关节处每天涂抹药物 2 次,持续 14 d。给药结束后处死大鼠,剪开膝关节滑膜上端,使用 1 mL 注射器吸取 200 μ L 无菌 PBS 灌洗关节腔,收集关节液;剪下滑膜组织,于 -80°C 保存备用;腹主动脉取血,静置后,4 $^{\circ}\text{C}$ 、2000 r/min 离心 10 min,分离血清。

2.2 疼痛行为学测定

给药结束后,使用 von Frey 纤维丝测痛仪刺激各组大鼠后足底中部至轻度弯曲 5 s,大鼠后足骤抬即为 1 次阳性反应(每次间隔大于 60 s),重复 3 次,则此力度即为机械痛阈值(paw withdrawal mechanical threshold, PWT)。使用热板仪,温度设定 52 $^{\circ}\text{C}$,测定各组大鼠后足底掌心,当大鼠后足移动时系统记录反应时间,即为热刺激缩足反射潜伏期(paw withdrawal thermal latency, PWTL)。使用双足平衡测痛仪,在大鼠无约束的情况下,测量大鼠两后足支撑力的差别,计算足负重。

足负重=左侧足支撑力/(左侧足支撑力+右侧足支撑力)

2.3 滑膜组织病理学观察

取各组大鼠滑膜组织,于 4%多聚甲醛中固定 24 h 后脱水、石蜡包埋、切片,再进行苏木素-伊红(HE)染色、脱水、封片,于显微镜下观察并拍照。按照组织学损伤评分标准(表 1)进行评分。

2.4 血清 IL-1 β 、PGE₂ 及关节液 IL-1 β 水平检测

按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清中 IL-1 β 、PGE₂ 和关节液中 IL-1 β 水平。

2.5 滑膜组织 IL-1 β 、PGE₂、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NOD-like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3) mRNA 表达检测

按照试剂盒说明书提取滑膜组织总 RNA 并合成 cDNA,进行 qRT-PCR 分析,引物序列见表 2。

表 1 组织学损伤评分标准

Table 1 Histological damage scoring criteria

评分	滑膜组织学	滑膜炎细胞浸润	纤维组织增生
0	正常,无增生	正常,无炎细胞浸润	正常,无纤维细胞
1	密集增生呈 2 层	少量炎细胞浸润	少量增生
2	密集增生呈 3 层	多量炎细胞浸润	多量增生
3	密集增生呈 3 层以上	大量炎细胞浸润	大量增生

表 2 引物序列

Table 2 Primer sequences

引物	序列(5'-3')
IL-1 β	F: AATCTCACAGCAGCATCTCGACAAG R: TCCACGGGCAAGACATAGGTAGC
PGE ₂	F: GCCATCAACCACGCCTACTTCTAC R: GTACTGCCGCTCGGACCTACC
NLRP3	F: CTGCTGTGCGTGGGACTGAAG R: AGAACCAATGCGAGATCCTGACAAC
β -actin	F: GCTGTGCTATGTTGCCCTAGACTTC R: GGAACCGCTCATTGCCGATAGTG

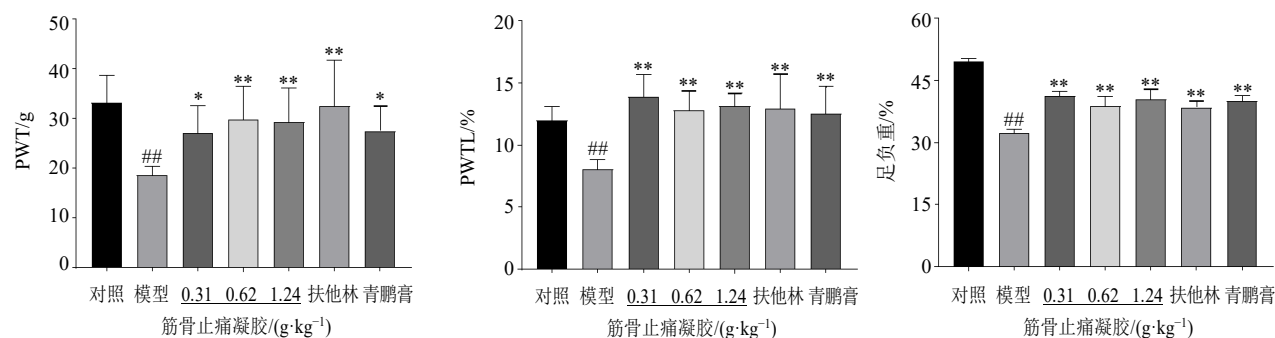
2.6 统计学分析

使用 GraphPad Prism 8 软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差(ANOVA)分析。

3 结果

3.1 筋骨止痛凝胶对 KOA 大鼠 PWT、PWTL 和足负重的影响

如图 1 所示,与对照组比较,模型组大鼠 PWT、PWTL 和足负重均显著降低($P < 0.01$);与模型组



与对照组比较: $^{\#}P < 0.05$ $^{\#\#}P < 0.01$; 与模型组比较: $^*P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$, 下同

$^{\#}P < 0.05$ $^{\#\#}P < 0.01$ vs control group; $^*P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ vs model group, same as below figures

图 1 筋骨止痛凝胶对 KOA 大鼠 PWT、PWTL 和足负重的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 1 Effect of Jinggu Zhitong Gel on PWT, PWTL and foot weight bearing in KOA rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

比较, 各给药组 PWT、PWT_L 和足负重均显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01), 其中筋骨止痛凝胶高、中剂量组对 PWT 的作用优于青鹏膏组, 呈现较好的镇痛作用。

3.2 筋骨止痛凝胶对 KOA 大鼠滑膜组织病理形态的影响

如图 2 和表 3 所示, 对照组大鼠滑膜组织结构

完整, 内膜和深层纤维结缔组织和脂肪组织层清晰, 无明显病理改变。模型组大鼠滑膜组织内有大量炎性细胞浸润, 纤维细胞增生 ($P<0.01$); 筋骨止痛凝胶低剂量组、扶他林组和青鹏膏组大鼠滑膜组织的病理状况相对减轻, 炎性细胞浸润减少, 轻度纤维细胞增生 ($P<0.01$)。

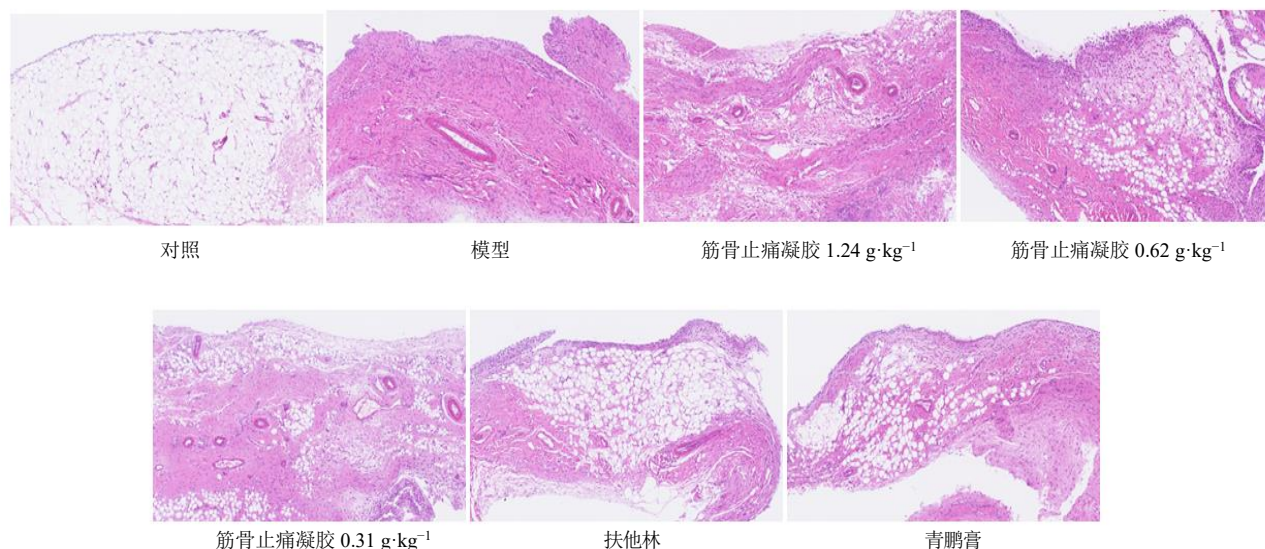


图 2 各组大鼠膝关节滑膜组织病理图 (HE, $\times 10$)

Fig. 2 Pathology of synovial tissue of knee joint of rats in each group (HE, $\times 10$)

表 3 各组大鼠滑膜组织病理损伤评分 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Table 3 Pathological damage score of synovial tissue in rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	组织病理学评分
对照	—	0
模型	—	3.50 ± 1.86 ^{##}
筋骨止痛凝胶	1.24	3.00 ± 1.55
	0.62	3.25 ± 1.72
	0.31	2.25 ± 1.22 ^{**}
	0.105	1.75 ± 0.98 ^{**}
扶他林	0.105	1.75 ± 0.98 ^{**}
青鹏膏	0.105	1.75 ± 0.98 ^{**}

与对照组比较: ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P<0.01$

^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{**} $P<0.01$ vs model group

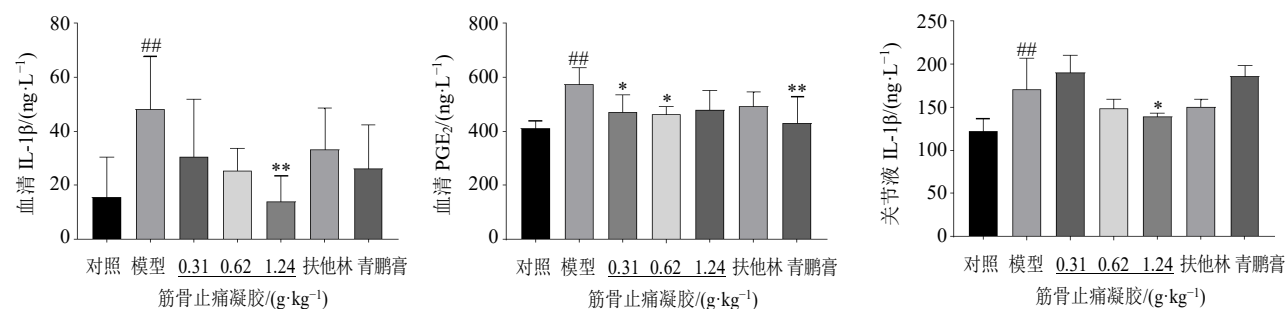


图 3 筋骨止痛凝胶对 KOA 大鼠血清中 IL-1 β 、PGE₂ 及关节液中 IL-1 β 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 3 Effect of Jingu Zhitong Gel on levels of IL-1 β , PGE₂ in serum and IL-1 β in joint fluid of KOA rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

3.4 筋骨止痛凝胶对 KOA 大鼠滑膜组织中 $IL-1\beta$ 、 PGE_2 和 $NLRP3$ mRNA 表达的影响

如图 4 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠滑膜组织中 $IL-1\beta$ 、 PGE_2 和 $NLRP3$ mRNA 表达水平均显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 筋骨止痛凝

胶低剂量组和扶他林组滑膜组织中 $IL-1\beta$ mRNA 表达水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 筋骨止痛凝胶低、中剂量组及扶他林组和青鹏膏组 PGE_2 和 $NLRP3$ mRNA 表达水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

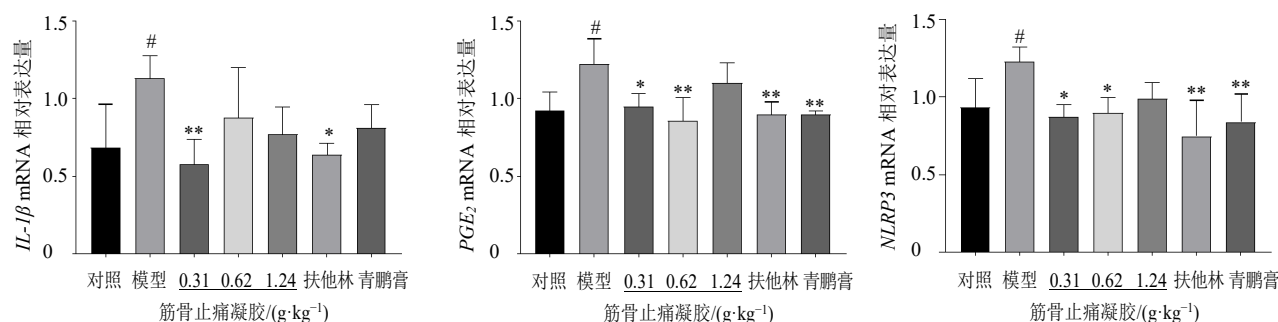


图 4 筋骨止痛凝胶对 KOA 大鼠滑膜组织中 $IL-1\beta$ 、 PGE_2 和 $NLRP3$ mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Effect of Jinggu Zhitong Gel on $IL-1\beta$, PGE_2 and $NLRP3$ mRNA expressions in KOA rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

4 讨论

KOA 是全球中老年人发病率极高的慢性疾病之一^[10]。其典型症状包括膝关节红肿热痛, 运动时疼痛加重, 严重影响患者生活质量, 增加家庭的经济压力。目前, KOA 早期阶段以滑膜炎为特征, 若对症治疗在一定程度上是有效的。然而病情发展到 KOA 中晚期, 软骨及软骨下骨的损坏呈现不可逆状态, 药物治疗的效果将大大降低, 从而导致高致残率^[11-12]。因此, 在 KOA 发病的早期, 及时制定有效的治疗方案来抑制滑膜的炎症进展, 阻止对软骨、软骨下骨的损伤至关重要。研究表明, 滑膜炎可以改变关节微环境, 最终影响 KOA 病程的进展^[13]。

本研究结果显示, 与对照组比较, 模型组大鼠足负重、PWT 等行为学指标降低, 滑膜组织病理显示炎性细胞浸润和纤维细胞增生, 提示 KOA 大鼠模型构建成功。研究表明, 关节腔注射 MIA 溶液会降低 KOA 大鼠疼痛阈值和关节活动度^[14]。 $IL-1\beta$ 、 PGE_2 作为炎症指标, 在 KOA 大鼠滑膜组织中异常升高^[15-16]。本研究发现, 与对照组比较, 模型组大鼠 PWT、PWTL 和足负重降低, 滑膜组织中炎症细胞及纤维细胞大量增生, 血清、关节液及滑膜组织中 $IL-1\beta$ 、 PGE_2 分泌增多, 提示 KOA 大鼠具有明显的滑膜炎。肾虚筋脉瘀滞证患者临床表现为关节疼痛, 胫软膝酸, 活动不利。MRI 影像学观察发现肾虚筋脉瘀滞 KOA 患者的滑膜增厚, 关节腔存在积液, 骨质增生并且形成关节腔内游离体^[17]。MIA 关节腔注射后的大鼠滑膜组织出现肿胀、充

血、增厚, 并且打开关节腔发现有明显的积液存在, 股骨表面的软骨增生, 在一定程度上可以模拟临床肾虚筋脉瘀滞证 KOA 患者的症状。

本研究在关节腔注射 MIA 建立 KOA 大鼠模型上, 考察筋骨止痛凝胶及阳性药扶他林、青鹏膏治疗 KOA 的药效及作用机制, 结果显示, 经筋骨止痛凝胶及阳性药扶他林、青鹏膏组治疗后, 大鼠 PWT、PWTL 和足负重明显降低, 筋骨止痛凝胶低剂量组、扶他林组和青鹏膏组滑膜组织炎性细胞浸润程度降低, 滑膜炎症显著改善。此外, 筋骨止痛凝胶能够明显抑制血清、关节液中 $IL-1\beta$ 和 PGE_2 的分泌, 降低滑膜组织中 $IL-1\beta$ 、 PGE_2 和 $NLRP3$ mRNA 表达, 表明筋骨止痛凝胶可以通过抑制 $IL-1\beta$ 和 PGE_2 等炎症因子的表达, 减轻炎症细胞浸润, 从而改善滑膜组织炎症。

炎症因子在 KOA 发展过程中发挥重要作用。当 $NLRP3$ 炎症小体被激活时, 刺激 $IL-1\beta$ 的产生, 诱导炎症的发生^[18]。 $NLRP3$ 参与骨关节炎的滑膜炎及软骨损伤, 发挥促炎作用^[19]。 $IL-1\beta$ 作为全身炎症的标志物, 当滑膜组织中的 $IL-1\beta$ 过表达时, 可能会刺激一氧化氮、 PGE_2 和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)等促炎因子表达增加^[20]。其中 $IL-1\beta$ 作为外周致痛物质, 在 KOA 发展过程中发挥至关重要的作用。正常滑膜细胞中 $IL-1\beta$ 含量较低, 在 KOA 滑膜中大量的 $IL-1\beta$ 由 $NLRP3$ 炎症小体刺激生成^[21]。过表达的 $IL-1\beta$ 又会促进 PGE_2 及胶原酶的产生, 进而导致滑膜和软骨中 MMP13 增

加, 参与 KOA 的炎症反应及软骨降解过程^[22]。以上研究表明, 抑制 NLRP3、IL-1 β 、PGE₂ 等炎症因子可以有效改善骨关节炎的滑膜炎。

筋骨止痛凝胶处方中含有的中药成分治疗关节炎的药理作用显著。处方中的君药醋延胡索具有活血、利气、止痛的功效, 延胡索乙素为其镇痛的主要有效成分, 可通过调节内源性化学物质、NLRP3, 抑制炎症, 降低感受器的兴奋性, 发挥抗炎、镇痛的药理活性^[23-25]; 臣药川芎具有活血行气、祛风止痛的功效, 内酯类成分如洋川芎内酯通过介导 NLRP3 炎症通路, 抑制 IL-1 β 等炎症介质水平, 抑制关节炎反应从而达到治疗骨关节炎的功效^[26]; 威灵仙具有祛风除湿、通络止痛的功效, 灵仙新苷通过抑制 NLRP3 的激活达到减轻类风湿关节炎滑膜炎及纤维化的作用^[27]。同时处方中的伸筋草、海桐皮等其他中药也具有祛风、通络、止痛的功效^[28-29]。

筋骨止痛凝胶可能通过抑制 NLRP3 炎症小体的活化, 降低 IL-1 β 、PGE₂ 的表达, 减轻炎症细胞浸润, 缓解滑膜炎, 从而发挥治疗 KOA 的作用。筋骨止痛凝胶是治疗 KOA 效果良好的中药复方制剂。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] van Kraan P M. Osteoarthritis year 2012 in review: Biology [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2012, 20(12): 1447-1450.
- [2] Glyn-Jones S, Palmer A R, Agricola R, *et al.* Osteoarthritis [J]. *Lancet*, 2015, 386(9991): 376-387.
- [3] 范中正, 董万涛, 张乾军, 等. “风寒湿邪”与膝关节炎发病机制相关性探讨 [J]. *甘肃中医药大学学报*, 2021, 38(1): 61-64.
- [4] Mathiessen A, Conaghan P G. Synovitis in osteoarthritis: Current understanding with therapeutic implications [J]. *Arthritis Res Ther*, 2017, 19(1): 18.
- [5] Yang X T, Thudium C S, Bay-Jensen A C, *et al.* Association between markers of synovial inflammation, matrix turnover and symptoms in knee osteoarthritis: A cross-sectional study [J]. *Cells*, 2021, 10(7): 1826.
- [6] Zhang L, Li X C, Zhang H S, *et al.* Agnuside alleviates synovitis and fibrosis in knee osteoarthritis through the inhibition of HIF-1 α and NLRP3 inflammasome [J]. *Mediators Inflamm*, 2021, 2021: 5534614.
- [7] Zhao Y, Shen Z B, Ge J R, *et al.* Efficacy and safety of tongning gel for knee osteoarthritis: A multicentre, randomized, double-blinded, parallel, placebo-controlled, clinical trial [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 8707256.
- [8] 付娟, 张海弢, 王雪宁, 等. 基于 GC-MS 联用法的筋骨止痛凝胶挥发性化学成分研究 [J]. *中南药学*, 2020, 18(12): 2050-2053.
- [9] Fernihough J, Gentry C, Malcangio M, *et al.* Pain related behaviour in two models of osteoarthritis in the rat knee [J]. *Pain*, 2004, 112(1/2): 83-93.
- [10] 王斌, 邢丹, 董圣杰, 等. 中国膝关节炎流行病学和疾病负担的系统评价 [J]. *中国循证医学杂志*, 2018, 18(2): 134-142.
- [11] Loeuille D, Rat A C, Goebel J C, *et al.* Magnetic resonance imaging in osteoarthritis: Which method best reflects synovial membrane inflammation? Correlations with clinical, macroscopic and microscopic features [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17(9): 1186-1192.
- [12] 王波, 余楠生. 膝关节炎阶梯治疗专家共识 (2018 年版) [J]. *中华关节外科杂志: 电子版*, 2019, 13(1): 124-130.
- [13] Arita H, Kaneko H, Aoki T, *et al.* The higher bone mineral density, the larger osteophyte and the severer synovitis in knee osteoarthritis-The bunkyo health study (BHS) [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2022, 30: S243.
- [14] Sakurai Y, Fujita M, Kawasaki S, *et al.* Contribution of synovial macrophages to rat advanced osteoarthritis pain resistant to cyclooxygenase inhibitors [J]. *Pain*, 2019, 160(4): 895-907.
- [15] Li L, Li Z X, Li Y Y, *et al.* Profiling of inflammatory mediators in the synovial fluid related to pain in knee osteoarthritis [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2020, 21(1): 99.
- [16] Shen J, Abu-Amer Y, O'Keefe R J, *et al.* Inflammation and epigenetic regulation in osteoarthritis [J]. *Connect Tissue Res*, 2017, 58(1): 49-63.
- [17] MacFarlane L A, Arant K R, Kostic A M, *et al.* Identifying inflammation in knee osteoarthritis: Relationship of synovial fluid white blood cell count to effusion-synovitis on magnetic resonance imaging [J]. *Arthritis Care Res*, 2022, doi: 10.1002/acr.25040.
- [18] Liao T Y, Ding L, Wu P, *et al.* Chrysin attenuates the NLRP3 inflammasome cascade to reduce synovitis and pain in KOA rats [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 3015-3027.
- [19] Zhang W, Zhang L L, Yang S, *et al.* Electroacupuncture ameliorates knee osteoarthritis in rats via inhibiting NLRP3 inflammasome and reducing pyroptosis [J]. *Mol Pain*, 2023, 19: 17448069221147792.
- [20] Chow Y Y, Chin K Y. The role of inflammation in the

- pathogenesis of osteoarthritis [J]. *Mediators Inflamm*, 2020, 2020: 8293921.
- [21] Roškar S, Hafner-Bratkovič I. The role of inflammasomes in osteoarthritis and secondary joint degeneration diseases [J]. *Life (Basel)*, 2022, 12(5): 731.
- [22] Zheng W H, Feng Z H, You S B, *et al.* Fisetin inhibits IL-1 β -induced inflammatory response in human osteoarthritis chondrocytes through activating SIRT1 and attenuates the progression of osteoarthritis in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 45: 135-147.
- [23] 李荣, 蔡青青, 牛彦兵, 等. 生、熟延胡索饮片药理作用的对比研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(19): 133-137.
- [24] Wang Y F, Zhu W, Lu D F, *et al.* Tetrahydropalmatine attenuates MSU crystal-induced gouty arthritis by inhibiting ROS-mediated NLRP3 inflammasome activation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 100: 108107.
- [25] Zhou H H, Wu D L, Gao L Y, *et al.* L-Tetrahydropalmatine alleviates mechanical hyperalgesia in models of chronic inflammatory and neuropathic pain in mice [J]. *Neuroreport*, 2016, 27(7): 476-480.
- [26] Shao M L, Lv D W, Zhou K, *et al.* Senkyunolide A inhibits the progression of osteoarthritis by inhibiting the NLRP3 signalling pathway [J]. *Pharm Biol*, 2022, 60(1): 535-542.
- [27] Li Y, Zheng J Y, Liu J Q, *et al.* Succinate/NLRP3 inflammasome induces synovial fibroblast activation: Therapeutical effects of clematichinenoside AR on arthritis [J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 532.
- [28] 张妍妍, 毕悦, 姜海. 伸筋草总生物碱对类风湿关节炎大鼠脾脏淋巴细胞增殖及 IL-17A、TGF- β 水平的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(31): 3426-3430.
- [29] 李法杰, 谷金玉, 张悦, 等. 海桐皮汤提取膏经皮给药对小鼠抗炎镇痛作用及机制研究 [J]. 海南医学院学报, 2022, 28(16): 1214-1221.

[责任编辑 李亚楠]