

活血止痛胶囊对骨关节炎大鼠的药效作用研究

李晓磊¹, 韩彦琪², 曹秀丽³, 江 笑¹, 章俊军³, 刘 璐¹, 陈 莹¹, 许 浚², 段宏泉¹, 付 诚^{3*}, 张铁军^{2*}

1. 天津医科大学药学院, 天津 300070

2. 天津药物研究院 药物成药性评价与系统转化全国重点实验室, 天津市中药质量标志物重点实验室, 中药现代制剂与质量控制技术国家地方联合工程实验室, 天津 300462

3. 江西百神昌诺药业有限公司, 江西 抚州 344000

摘要: **目的** 研究活血止痛胶囊对骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 大鼠的药效作用。**方法** 采用改良 Hulth 法诱导大鼠 OA 模型, 造模后大鼠随机分为模型组、盘龙七片 (283 mg/kg) 组、塞来昔布 (18 mg/kg) 组和活血止痛胶囊低、中、高剂量 (135、270、540 mg/kg) 组, 每组 10 只, 另取 10 只正常大鼠作为对照组。给予药物干预 30 d 后, 从疼痛阈值、步态行为、骨微结构、膝关节病理、氧化应激水平、炎症因子水平以及相关功能蛋白的表达评价活血止痛胶囊对 OA 大鼠的药效作用。**结果** 与模型组比较, 活血止痛胶囊组大鼠机械性反射阈值显著升高 ($P < 0.001$), 足印长度、足趾宽度和足印面积显著减少 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 膝关节骨小梁数量、骨体积分数、各向异性程度和骨密度显著升高 ($P < 0.01$ 、 0.001), 骨小梁分离度和结构模型指数明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 血清和关节软骨组织中乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 活性及丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 还原性谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 水平及超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 大鼠血清和关节腔灌洗液中白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂)、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 软骨组织中 II 型胶原蛋白 (Collagen II) 和基质金属蛋白酶抑制剂-1 (tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1) 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.001$), 基质金属蛋白酶 13 (matrix metalloproteinases 13, MMP13) 和聚蛋白多糖酶 5 (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 5, ADAMTS5) 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.001$), 大鼠软骨损伤和退变、滑膜炎症反应得到不同程度的改善。**结论** 活血止痛胶囊能够通过改善 OA 大鼠疼痛阈值、步态行为、关节骨微结构改变、软骨损伤、抗氧化因子、抗炎因子及功能蛋白的表达, 从而发挥治疗 OA 的作用。

关键词: 活血止痛胶囊; 骨关节炎; 软骨损伤; 抗氧化; 抗炎; 细胞外基质

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)12-4306-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.12.014

Effect of Huoxue Zhitong Capsules in treatment of osteoarthritis rats

LI Xiaolei¹, HAN Yanqi², CAO Xiuli³, JIANG Xiao¹, ZHANG Junjun³, LIU Lu¹, CHEN Ying¹, XU Jun², DUAN Hongquan¹, FU Cheng³, ZHANG Tiejun²

1. School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

2. State Key Laboratory of Druggability Evaluation and Systematic Translational Medicine, Tianjin Key Laboratory of Quality Marker of Traditional Chinese Medicine, National & Local United Engineering Laboratory of Modern Preparation and Quality Control Technology of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300462, China

3. Jiangxi Baishen Changnuo Pharmaceutical Co., Ltd., Fuzhou 344000, China

Abstract: Objective To study the therapeutic efficacy of Huoxue Zhitong Capsule (活血止痛胶囊, HXZT) on osteoarthritis (OA) rats. **Methods** The model of rats with OA was induced by improved Hulth method. After modeling, the rats were randomly divided

收稿日期: 2024-12-30

作者简介: 李晓磊 (1999—), 男, 硕士, 研究方向为生药学。E-mail: shimyl223@163.com

*通信作者: 张铁军, 男, 研究员, 从事中药新药研发及中药大品种二次开发研究。E-mail: zhangtj@tjipr.com

付 诚, 男, 从事中药质量研究。E-mail: 24318997@qq.com

into model group, Panlongqi Tablet (PL, 283 mg/kg) group, celecoxib (CEL, 18 mg/kg) group, HXZT low-, medium- and high-dose (135, 270, 540 mg/kg) groups, with 10 rats in each group, and 10 normal rats were selected as the control group. After 30 d of drug intervention, the pharmacodynamic effect of HXZT on OA rats was evaluated from the pain threshold, gait behavior, bone microstructure, knee joint pathology, oxidative stress level, inflammatory factor level and expressions of related functional proteins. **Results** Compared with model group, the mechanical reflex threshold of rats in HXZT group was significantly increased ($P < 0.001$), the length of footprints, the width of toes and the area of footprints were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), the number of trabecular bones, bone volume fraction, anisotropy and bone mineral density of knee joints were significantly increased ($P < 0.01, 0.001$), and the trabecular separation and structural model index were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$). The activity of lactate dehydrogenase (LDH) and the level of malondialdehyde (MDA) in serum and articular cartilage tissues were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), and the level of glutathione (GSH) and the activity of superoxide dismutase (SOD) were significantly increased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). The levels of interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α), prostaglandin E₂ (PGE₂) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in serum and joint lavage fluid of rats were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). The protein expression levels of collagen II and tissue inhibitor of metal protease-1 (TIMP-1) in cartilage tissue were significantly increased ($P < 0.001$), while matrix metalloproteinases 13 (MMP13) and a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 5 (ADAMTS5) were significantly reduced ($P < 0.001$). Cartilage injury and degeneration and synovial inflammation were improved to varying degrees in rats. **Conclusion** HXZT can play a role in the treatment of OA by improving pain threshold, gait behavior, alterations in joint bone microstructure, cartilage damage, antioxidant factors, anti-inflammatory factors and expressions of functional proteins in OA rats.

Key words: Huoxue Zhitong Capsules; osteoarthritis; cartilage damage; antioxidant; anti-inflammatory; extracellular matrix

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是整个关节的复杂退行性病变, 又称退行性骨关节病, 是一种最常见的关节紊乱, 常发生于髋、膝关节。OA 以关节疼痛、肿胀、活动受限、关节畸形及关节周围肌肉萎缩等为主要临床表现, 病变主要累及关节软骨及其下骨、滑膜等组织, 主要病理表现为关节软骨下骨硬化, 关节软骨破坏、周围骨质增生、关节间隙变窄、滑膜细胞增生以及滑膜炎等^[1]。OA 发病机制为在力学和生物学因素共同作用下导致软骨细胞、细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 及软骨下骨的降解与合成失衡, 引起关节软骨退变、纤维化、软骨下骨硬化、炎性变化及骨赘形成, 其中心环节是关节软骨的退变。关节软骨由软骨细胞和 ECM 2 部分组成, 软骨细胞在关节软骨约占 10%, 其功能是分泌胶原蛋白、弹性蛋白、蛋白多糖以构成 ECM; ECM 的功能主要是保持软骨的完整性和伸展性, 维持软骨张力, 使软骨具有抗压特性, 其中 II 型胶原蛋白 (Collagen II) 和蛋白多糖又占 ECM 干质量的 95% 左右。ECM 的降解和软骨细胞凋亡所导致的软骨退变是 OA 最重要的特征性病理改变。正常情况下, 软骨中存在一种塑形重建机制, 即“衰老软骨”的清除和“新生软骨”的产生, 而在 OA 中这种塑形重建平衡被打破, 自我更新修复能力随着年龄、创伤等因素下降, 最终导致不可修复的关节软骨损伤, 引起 OA 的临床症状^[2]。

目前, 针对 OA 治疗药物有中药和化学药 2 类,

在 OA 发生发展的过程中, 能够缓解 OA 的各种症状, 不同程度地延缓 OA 的发展, 但均未能有效阻止, 最终导致骨关节严重变形、疼痛, 无法行走。活血止痛胶囊由当归、三七、醋乳香、冰片、土鳖虫、煅自然铜 6 味中药组成, 具有活血散瘀、消肿止痛的功效, 用于跌打损伤、瘀血肿痛, 临床主要用于治疗急、慢性软组织损伤类疾病, 具有良好的疗效, 但对于 OA 的治疗作用尚缺乏实验依据。由于膝骨关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 患者在临床上最常见, 本研究采用 KOA 大鼠模型, 评价活血止痛胶囊的药效作用。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 86 只, 体质量 (235 $\pm$ 15) g, 购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司, 许可证号 SCXK (京) 2019-0010。动物在 SPF 级动物室适应性喂养 7 d 后进行实验。动物实验经中国医学科学院放射医学研究所实验动物伦理委员会批准 (批准号 IRM-DWLL-2023187)。

1.2 药品与试剂

活血止痛胶囊 (国药准字 Z20083067, 批号 220707) 购自江西百神昌药业有限公司; 塞来昔布 (国药准字 H20203325, 批号 220903311) 购自青岛百洋制药有限公司; 盘龙七片 (国药准字 Z61020050, 批号 20220702) 购自陕西盘龙药业集团股份有限公司; 还原性谷胱甘肽 (glutathione,

GSH) 测试盒 (批号 20230403)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 测试盒 (批号 20230403)、微量丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 测试盒 (批号 20230403)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 测试盒 (批号 20230403) 均购自南京建成生物工程研究所; 大鼠白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) ELISA 测试盒 (批号 C07026579)、大鼠 IL-6 ELISA 测试盒 (批号 C08026580)、大鼠前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂) ELISA 测试盒 (批号 C0265120233)、大鼠诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) ELISA 测试盒 (批号 C10026582)、大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ELISA 测试盒 (批号 C09026581) 均购自武汉华美生物工程有限公司; Collagen II 抗体 (批号 1042494-14) 购自英国 Abcam 公司; 兔抗基质金属蛋白酶抑制剂-1 (tissue inhibitor of metalloprotease-1, TIMP-1) 抗体 (批号 BC02013680)、兔抗基质金属蛋白酶 13 (matrix metalloproteinases 13, MMP13) 抗体 (批号 BB06222955)、兔抗聚蛋白多糖酶 5 (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 5, ADAMTS5) 抗体 (批号 BB11143793) 均购自北京博奥森生物技术有限公司; β -actin 抗体 (批号 00070175)、HRP 标记的抗兔 IgG 抗体 (批号 29) 均购自美国 CST 公司。

1.3 仪器

ZS-CTY 型足底刺痛系统 (北京众实迪创科技发展有限公司); SKYSCAN 1276 型 Micro-CT (德国 BRUKER 公司); WZX-C 型精准体重秤 (浙江凯丰集团有限公司); H1850R 型台式高速冷冻离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); VCX130PB 型超声波细胞破碎仪 (美国 SONICS 公司); Synergy HTX 型多功能荧光酶标仪 (美国 BioTek 公司); TS-2 型摇床 (其林贝尔仪器); MR Hei-Tec 恒温加热器 (德国 Heidolph 公司); 1658001 小型垂直电泳转印系统 (美国 Bio-Rad 公司); Alliance Q9 型凝胶成像分析系统 (英国 UVITEC 公司)。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

随机选取 10 只大鼠作为对照组, 其余大鼠采用改良 Hulth 法复制 OA 模型。大鼠术前 12 h 禁食并称定质量, 采用异氟烷麻醉后, 仰卧位固定于手术台上, 暴露关节腔并逐层切开, 依次切断前交叉韧带、内侧副韧带, 极度屈膝使内侧半月板充分暴露,

摘除半月板, 术后大鼠连续 3 d 用青霉素 (8×10^4 U/d)。术后正常饲养 30 d, 每天进行一般性观察, 观察各组大鼠的精神状态、活动状况、毛发、饮食饮水及排泄等情况, 每周称量大鼠体重并记录。饲养 30 d 后, 进行缩爪疼痛阈值、小动物成像 CT 以及步态行为学检测, 比较正常大鼠和造模大鼠之间的差异, 以判断造模成功情况。将成模大鼠随机分为模型组、盘龙七片 (283 mg/kg) 组、塞来昔布 (18 mg/kg) 组和活血止痛胶囊低、中、高剂量 (135、270、540 mg/kg, 分别相当于临床剂量的 0.5、1、2 倍) 组, 每组 10 只。各给药组 ig 相应药物 (5 mL/kg), 对照组和模型组 ig 等体积 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液, 1 次/d, 连续 30 d。

2.2 样本采集

给药结束后, 处死大鼠, 取血液装入含促凝剂和分离胶的采血管中, 静置 30 min 后, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清; 每组随机选取 4 只取完血的大鼠, 迅速切取左右后肢, 用 4% 多聚甲醛固定; 用生理盐水对剩余大鼠膝关节腔进行灌洗, 收集灌洗液并用生理盐水定容到 1.5 mL; 迅速切取收集关节腔灌洗液后的大鼠左右膝关节软骨, 分装于冻存管中; 标记后, 将血清、关节灌洗液和软骨转移至 -80 °C 冰箱保存。

2.3 机械性反射阈值检测

将大鼠放入活动箱适应 5~6 min, 在大鼠处于静息状态时, 使用直径 0.8 mm 的刺激针穿过活动箱底部不锈钢网逐渐加压刺激大鼠脚掌, 至大鼠出现明显的缩爪/抬脚反应, 记录最大压力。每只大鼠重复刺激 5 次, 每次间隔 30 s。

2.4 步态行为学测试

使用纸板制作出长 110 cm、宽 20 cm、高 20 cm 的 2 个并行的步道, 上方开放, 前后两端设进出口, 在适当位置设置摄像机, 实时记录实验过程, 选用宣纸以及书画印泥进行足印记录。正式实验前对大鼠进行 4~5 d 的适应性训练。正式实验时以大鼠从起点正常行走完全程, 并留下 5~6 对连续脚印为 1 次有效实验, 每只大鼠需完成 1~3 次有效实验。将宣纸上的足印通过扫描仪转换为电子图片后, 使用 Image J 软件进行数据读取。

2.5 Micro-CT 骨微结构检测

从固定液中取出大鼠后肢, 吸水纸擦干, 2 条后肢为一组先用珍珠棉板固定, 再固定于样品床上。

扫描参数: 电流 200 μA , 电压 85 kV, 分辨率 8 μm , 扫描完成后进行重构。将扫描结果先导入 DataViewer 框选出股骨体中部到股骨远端作为主要分析区域, 并调整骨的空间位置。使用 CTAn 打开相应文件选取距离生长板 2~5 mm 的区域作为感兴趣图层, 然后将感兴趣图层内的松质骨作为感兴趣区域 (regions of interest, ROI), 最后由 CTAn 进行 3D 分析, 分析指标包括骨小梁数量、骨体积分数、各向异性程度、骨密度、骨小梁分离度以及结构模型指数。

2.6 番红 O 固绿和苏木素-伊红 (HE) 染色观察大鼠膝关节软骨病理变化

取各组大鼠后肢膝关节, 常规固定, 经脱钙、透明、浸蜡、包埋、切片后, 分别进行 HE 及番红 O 固绿染色。采用 HE 染色评价各组大鼠后肢膝关节滑膜组织病理情况, 番红 O 固绿染色观察各组大鼠膝关节软骨组织退变、软骨下骨的病变情况, 评估活血止痛胶囊对大鼠膝关节软骨损伤的保护和修复情况。

2.7 化学比色法测定血清及关节软骨组织中 LDH、SOD 活性及 GSH、MDA 水平

按照试剂盒说明书检测各组大鼠血清及关节软骨中 LDH、SOD 活性及 GSH、MDA 水平。

2.8 ELISA 法测定血清及关节灌洗液中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、iNOS、PGE₂ 水平

按照 ELISA 试剂盒说明书检测各组大鼠血清及关节灌洗液中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、iNOS、PGE₂ 水平。

2.9 Western blotting 检测关节软骨组织中 MMP13、TIMP-1、ADAMTS5、Collagen II 蛋白表达

膝关节软骨与 RIPA 裂解液按照组织 (mg): 裂解液 (μL) = 1:5 的比例混合, 使用超声波细胞破碎仪破碎后, 4 $^{\circ}\text{C}$ 、6 800 r/min 离心 15 min, 吸取上清, 置 -20 $^{\circ}\text{C}$ 备用。BCA 法测定蛋白含量, 蛋

白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 室温轻摇封闭 1 h。加入相应一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 轻摇孵育过夜, 用 TBST 洗膜 3 次, 每次 3 min。加入二抗, 室温孵育 1 h, TBST 洗膜后, 加入 ECL 发光液, 避光反应 1 min, 使用 UVITEC 凝胶成像系统曝光。

2.10 统计学分析

使用 GraphPad Prism 9 软件进行统计学分析, 实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组实验数据的分析比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 活血止痛胶囊对 KOA 大鼠机械性反射阈值的影响

如表 1 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠机械性反射阈值显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组大鼠机械性反射阈值均显著升高 ($P < 0.05$ 、0.001)。

3.2 活血止痛胶囊对 KOA 大鼠步态行为学的影响

如表 2 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠足印长度、足趾宽度和足印面积均显著减少 ($P < 0.001$);

表 1 活血止痛胶囊对 KOA 大鼠机械性反射阈值的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Effect of Huoxue Zhitong Capsules on mechanical reflex threshold of KOA rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	机械性反射阈值/g
对照	—	5.69 ± 1.67
模型	—	3.51 ± 0.64 ^{##}
活血止痛胶囊	135	6.57 ± 1.76 ^{***}
	270	6.65 ± 1.44 ^{***}
	540	7.63 ± 1.72 ^{***}
盘龙七片	283	5.38 ± 0.82 [*]
塞来昔布	18	7.03 ± 1.35 ^{***}

与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$, 下表同。

[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group, same as below tables.

表 2 活血止痛胶囊对 KOA 大鼠步态行为学的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Effect of Huoxue Zhitong Capsules on gait behavior of KOA rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	足印长度/mm	足趾宽度/mm	足印面积/mm ²
对照	—	32.27 ± 1.71	21.24 ± 0.97	87.17 ± 14.50
模型	—	28.36 ± 1.32 ^{###}	18.37 ± 1.09 ^{###}	52.24 ± 4.78 ^{###}
活血止痛胶囊	135	29.88 ± 0.89 [*]	19.92 ± 1.33 ^{**}	56.23 ± 4.55
	270	30.89 ± 0.77 ^{***}	20.84 ± 1.00 ^{***}	63.04 ± 3.73 [*]
	540	31.53 ± 0.63 ^{***}	21.56 ± 1.07 ^{***}	72.30 ± 7.15 ^{***}
盘龙七片	283	31.87 ± 1.17 ^{***}	21.12 ± 1.03 ^{***}	66.23 ± 5.14 ^{***}
塞来昔布	18	30.99 ± 1.04 ^{***}	20.89 ± 0.10 ^{***}	73.95 ± 9.31 ^{***}

与模型组比较, 各给药组大鼠足印长度和足趾宽度均显著增加 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001), 除活血止痛胶囊低剂量组外, 其余给药组大鼠足印面积均显著增加 ($P<0.05$ 、 0.001)。

3.3 活血止痛胶囊对 KOA 大鼠骨微结构的影响

如表 3 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠膝关节骨小梁数量、骨体积分数、各向异性程度和骨密

度均显著降低 ($P<0.001$), 骨小梁分离度和结构模型指数明显升高 ($P<0.01$ 、 0.001); 与模型组比较, 各给药组大鼠膝关节骨小梁数量、骨体积分数和骨密度均显著升高 ($P<0.01$ 、 0.001), 骨小梁分离度和结构模型指数明显降低 ($P<0.05$ 、 0.01), 活血止痛胶囊中、高剂量组和塞来昔布组大鼠膝关节各向异性程度显著升高 ($P<0.01$)。

表 3 活血止痛胶囊对 KOA 大鼠骨微结构的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

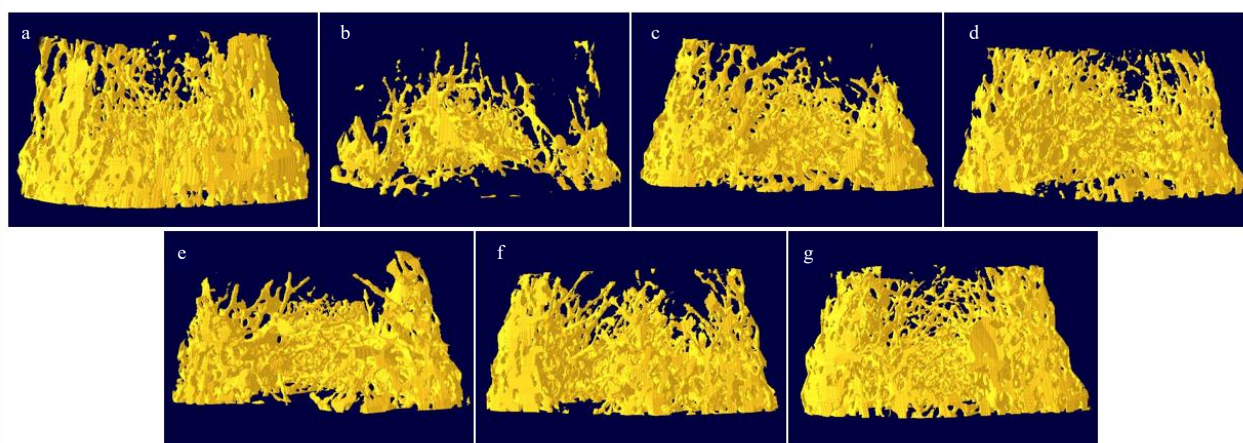
Table 3 Effect of Huoxue Zhitong Capsules on bone microstructure of KOA rats ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	骨小梁数量/mm ⁻¹	骨体积分数/%	各向异性程度	骨密度/(g·cm ⁻³)	骨小梁分离度/ mm	结构模型指数
对照	—	1.63±0.11	15.58±0.46	2.34±0.11	1.19±0.04	0.63±0.13	1.81±0.04
模型	—	0.74±0.08 ^{###}	7.79±1.07 ^{###}	1.54±0.02 ^{###}	1.04±0.01 ^{###}	1.22±0.07 ^{###}	2.20±0.07 ^{##}
活血止痛胶囊	135	1.31±0.02 ^{***}	14.57±1.25 ^{***}	1.65±0.08	1.17±0.02 ^{**}	0.88±0.06 [*]	1.74±0.11 ^{**}
	270	1.55±0.09 ^{***}	17.87±0.97 ^{***}	1.84±0.07 ^{**}	1.31±0.02 ^{***}	0.73±0.10 [*]	1.65±0.08 ^{**}
	540	1.65±0.10 ^{***}	18.48±2.45 ^{***}	1.86±0.10 ^{**}	1.34±0.11 ^{***}	0.62±0.26 ^{**}	1.66±0.23 ^{**}
盘龙七片	283	1.41±0.08 ^{***}	14.80±1.86 ^{***}	1.69±0.11	1.21±0.06 ^{***}	0.67±0.18 ^{**}	1.82±0.08 [*]
塞来昔布	18	1.55±0.06 ^{***}	17.55±1.86 ^{***}	1.83±0.10 ^{**}	1.31±0.13 ^{***}	0.69±0.22 ^{**}	1.67±0.21 ^{**}

各组大鼠膝关节骨小梁三维重建图见图 1, 对照组大鼠骨小梁结构均匀, 排列整齐有序; 模型组骨小梁稀疏, 出现镂空现象, 而且骨小梁变薄, 骨小梁连接减少, 部分骨小梁连接中断, 网状结构消失。与模型组相比, 各给药组不同程度地逆转骨小梁稀疏、变薄、连接减少以及部分镂空现象, 其中活血止痛胶囊高剂量组、塞来昔布组骨小梁形态接近对照组, 而盘龙七片组尚有小部分骨小梁连接中断, 未连接成网状结构。

3.4 活血止痛胶囊对 KOA 大鼠血清和软骨组织中氧化应激水平的影响

如表 4、5 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠血清和关节软骨组织中 LDH 活性及 MDA 水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001), GSH 水平及 SOD 活性显著降低 ($P<0.05$); 与模型组比较, 活血止痛胶囊中、高剂量组及盘龙七片组和塞来昔布组大鼠血清和关节软骨组织中 LDH 活性及 MDA 水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001), GSH 水平及 SOD



a-对照组, b-模型组, c-盘龙七片组, d-塞来昔布组, e~g-HXZT 低、中、高剂量组, 图 3、4 同。

a-control group, b-model group, c-Panlongqi Tablet group, d-celecoxib group, e—g-Huoxue Zhitong Capsules low-, medium- and high-dose groups, same as Figs. 3, 4.

图 1 Micro-CT 检测各组大鼠膝关节骨微结构变化

Fig. 1 Changes in knee microstructure of rats in each group by Micro-CT

表 4 活血止痛胶囊对 KOA 大鼠血清中氧化应激水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 4 Effect of Huoxue Zhitong Capsules on levels of oxidative stress in serum of KOA rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	LDH/(U·mL ⁻¹)	GSH/(μmol·L ⁻¹)	MDA/(nmol·L ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)
对照	—	606.77±17.76	229.44±31.51	2.84±0.19	29.00±1.36
模型	—	733.58±53.25 [#]	156.29±16.44 [#]	6.87±0.13 ^{###}	24.09±0.94 [#]
活血止痛胶囊	135	714.28±34.27	176.84±27.36	5.56±0.26 [*]	26.37±4.22 [*]
	270	689.52±37.13 [*]	197.67±25.41 ^{**}	4.06±0.60 ^{***}	28.57±2.75 ^{***}
	540	626.99±27.78 ^{**}	261.71±21.40 ^{**}	2.71±0.78 ^{***}	30.27±1.73 ^{***}
盘龙七片	283	680.59±17.32 [*]	215.27±32.22 [*]	3.32±0.31 ^{***}	28.89±2.29 ^{***}
塞来昔布	18	698.79±15.74 [*]	260.46±29.31 ^{**}	5.29±0.59 [*]	30.03±2.38 ^{***}

表 5 活血止痛胶囊对 KOA 大鼠软骨组织中氧化应激水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 5 Effect of Huoxue Zhitong Capsules on levels of oxidative stress in cartilage tissue of KOA rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	LDH/(U·mL ⁻¹)	GSH/(μmol·L ⁻¹)	MDA/(nmol·L ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)
对照	—	371.16±56.50	126.11±16.30	4.22±0.88	38.66±5.40
模型	—	537.79±84.09 [#]	83.24±16.79 [#]	9.87±1.63 ^{##}	25.89±2.75 [#]
活血止痛胶囊	135	456.71±26.69	102.65±13.09 [*]	7.71±1.21	28.36±6.27 [*]
	270	378.71±12.61 ^{**}	103.60±9.88 [*]	5.78±1.29 ^{**}	32.88±3.23 [*]
	540	341.01±7.55 ^{***}	113.51±15.30 [*]	5.45±0.37 ^{***}	35.38±1.85 ^{**}
盘龙七片	283	395.93±22.01 ^{**}	110.19±7.31 [*]	5.90±0.71 ^{***}	32.98±2.09 [*]
塞来昔布	18	371.21±46.57 ^{**}	110.95±11.42 [*]	5.48±1.26 ^{**}	32.55±1.67 ^{**}

活性显著升高 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001); 活血止痛胶囊低剂量组大鼠血清中 MDA 水平显著降低、SOD 活性显著升高 ($P < 0.05$), 关节软骨组织中 GSH 水平及 SOD 活性显著升高 ($P < 0.05$)。

3.5 活血止痛胶囊对 KOA 大鼠血清和关节腔灌洗液中炎症因子水平的影响

如表 6、7 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠血清和关节腔灌洗液中 IL-1β、IL-6、TNF-α、PGE₂、

iNOS 水平显著升高 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001); 与模型组比较, 活血止痛胶囊中、高剂量组及盘龙七片组和塞来昔布组大鼠血清和关节腔灌洗液中 IL-1β、IL-6、TNF-α、PGE₂、iNOS 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 活血止痛胶囊低剂量组大鼠血清中 IL-6、PGE₂、iNOS 水平及关节腔灌洗液中 IL-1β、IL-6、TNF-α、PGE₂、iNOS 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01)。

表 6 活血止痛胶囊对 KOA 大鼠血清中炎症因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 6 Effect of Huoxue Zhitong Capsules on levels of inflammatory factors in serum of KOA rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	IL-1β/(ng·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)	PGE ₂ /(pg·mL ⁻¹)	iNOS/(IU·mL ⁻¹)
对照	—	0.41±0.02	0.64±0.04	11.45±0.13	6.85±1.98	0.41±0.23
模型	—	0.84±0.06 [#]	2.13±0.09 ^{##}	21.62±0.62 ^{###}	15.50±1.36 [#]	10.42±0.37 ^{###}
活血止痛胶囊	135	0.64±0.07	0.61±0.24 ^{**}	17.02±0.89	8.75±0.21 [*]	8.79±1.48 ^{**}
	270	0.52±0.04 [*]	0.58±0.02 ^{***}	12.32±0.72 ^{***}	7.62±1.52 [*]	3.44±0.71 ^{***}
	540	0.39±0.08 ^{**}	0.47±0.02 ^{***}	13.01±0.32 ^{***}	5.62±0.31 ^{**}	1.28±0.08 ^{***}
盘龙七片	283	0.48±0.02 [*]	0.96±0.01 ^{**}	12.89±0.25 ^{***}	8.45±1.20 [*]	1.65±0.28 ^{***}
塞来昔布	18	0.29±0.07 ^{***}	1.09±0.14 ^{**}	13.43±0.53 ^{***}	7.38±1.60 ^{**}	2.40±0.31 ^{***}

表 7 活血止痛胶囊对 KOA 大鼠关节腔灌洗液中炎症因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 7 Effect of Huoxue Zhitong Capsules on levels of inflammatory factors in joint lavage fluid of KOA rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	IL-1β/(ng·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)	PGE ₂ /(pg·mL ⁻¹)	iNOS/(IU·mL ⁻¹)
对照	—	0.32±0.03	1.50±0.15	12.24±0.32	2.57±0.031	0.81±0.06
模型	—	1.25±0.23 [#]	2.84±0.16 [#]	23.13±0.30 ^{##}	4.94±0.141 ^{##}	11.31±0.60 ^{###}
活血止痛胶囊	135	0.86±0.01 [*]	1.82±0.11 [*]	18.59±0.41 [*]	3.12±0.135 ^{**}	7.19±0.34 ^{**}
	270	0.54±0.08 ^{**}	1.83±0.09 [*]	17.28±0.85 ^{**}	3.55±0.055 [*]	5.56±0.7 ^{***}
	540	0.33±0.09 ^{***}	1.69±0.07 ^{**}	13.98±1.92 ^{***}	2.50±0.072 ^{***}	4.60±0.18 ^{***}
盘龙七片	283	0.68±0.05 [*]	1.95±0.08 [*]	16.21±1.07 ^{**}	2.31±0.021 ^{***}	4.43±0.21 ^{***}
塞来昔布	18	0.41±0.11 ^{***}	2.04±0.09 [*]	15.55±0.82 ^{**}	2.98±0.050 ^{**}	4.91±0.11 ^{***}

3.6 活血止痛胶囊对 KOA 大鼠软骨组织中 Collagen II、TIMP-1、MMP13、ADAMTS5 蛋白表达的影响

如图 2 所示,与对照组比较,模型组大鼠软骨组织中 Collagen II 和 TIMP-1 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.001$),MMP13 和 ADAMTS5 蛋白表达水

平显著升高 ($P<0.001$),表明 ECM 的合成与分解平衡被打破;与模型组比较,除活血止痛胶囊低剂量组外,其余给药组 Collagen II 和 TIMP-1 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.001$),MMP13 和 ADAMTS5 蛋白表达水平显著降低 ($P<0.001$),表明活血止痛胶囊能逆转 ECM 稳态的失衡。

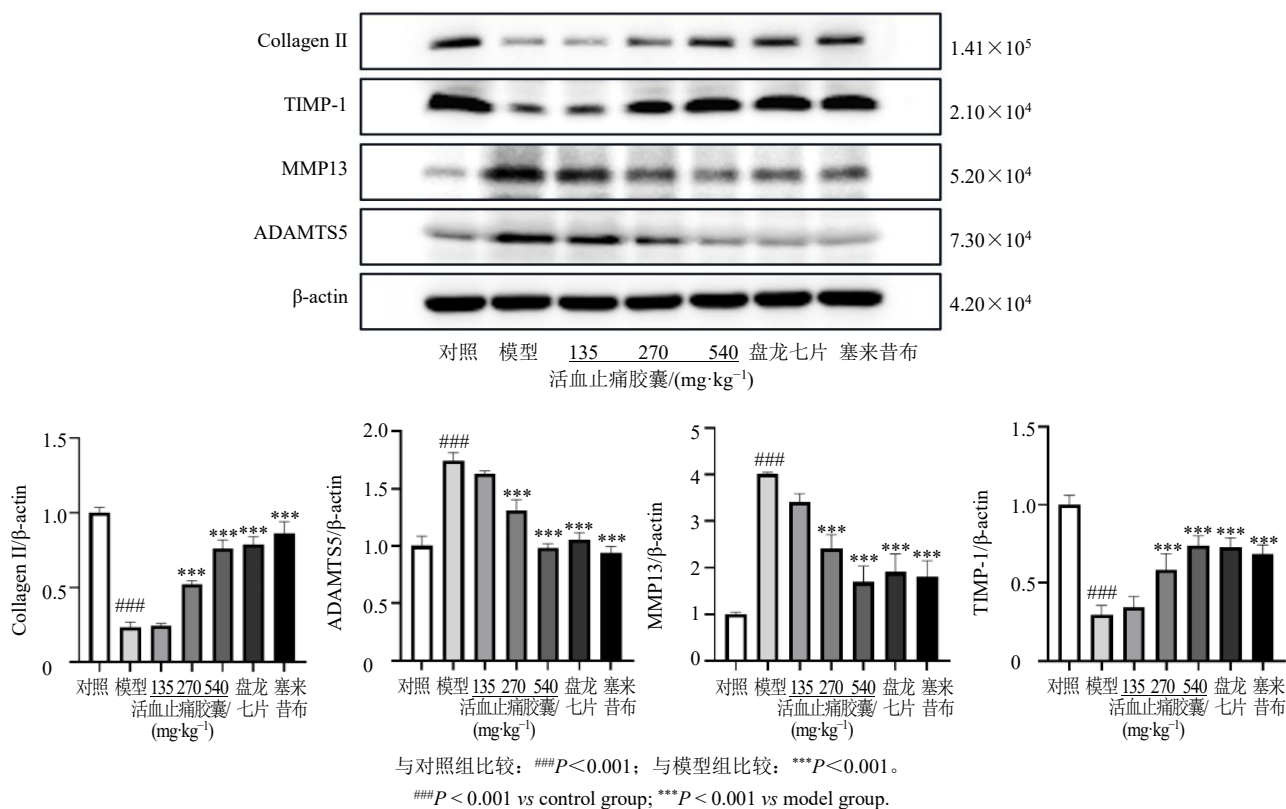


图 2 活血止痛胶囊对 KOA 大鼠软骨组织中 Collagen II、TIMP-1、MMP13、ADAMTS5 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 2 Effect of Huoxue Zhitong Capsules on expressions of Collagen II, TIMP-1, MMP13 and ADAMTS5 protein in cartilage tissue of KOA rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3.7 活血止痛胶囊对 KOA 大鼠膝关节软骨病理变化的影响

各组大鼠膝关节番红 O 固绿染色结果如图 3 所示,对照组大鼠软骨组织表面光滑平整,软骨细胞分布均匀,排列整齐,层次清晰,潮线完整。模型组软骨组织出现明显的浅表溃疡、裂隙和软骨基质丢失,部分区域软骨全部丢失,相关潮线缺损,缺损潮线下软骨细胞和基质丢失,钙化软骨增加,潮线下嗜碱性细胞增加,软骨组织增生。活血止痛胶囊低剂量组软骨表层缺损程度较模型组减轻,软骨膜损伤区域下方具有轻微的软骨塌陷,较多软骨细胞和基质丢失,附近软骨细胞排列紊乱,潮线部分消失。活血止痛胶囊中剂量组软骨表面缺损显著改善,软骨膜下嗜碱性细胞增加,新生软骨形成,软

骨细胞和基质丢失较活血止痛胶囊低剂量组有所逆转。活血止痛胶囊高剂量组关节软骨结构基本完好,软骨表面未发现明显缺损,仅有局部轻微下陷,嗜碱性细胞增加,软骨细胞减少和少量基质丢失,潮线基本完整,其余软骨各层细胞结构清晰,未见软骨细胞坏死等异常情况。盘龙七片组关节软骨表面大部分光滑,软骨表面局部有一定软骨磨损,轻微塌陷,软骨病变区域下方嗜碱性细胞增加,软骨细胞和基质部分丢失,其余部分未发现纤维化和软骨细胞减少,软骨各层细胞结构清晰。塞来昔布组关节软骨整体结构基本完好,软骨膜表层出现部分磨损,损伤区域下略有软骨细胞减少和钙化软骨,其余部分正常。

各组大鼠膝关节 HE 染色结果如图 4 所示,对

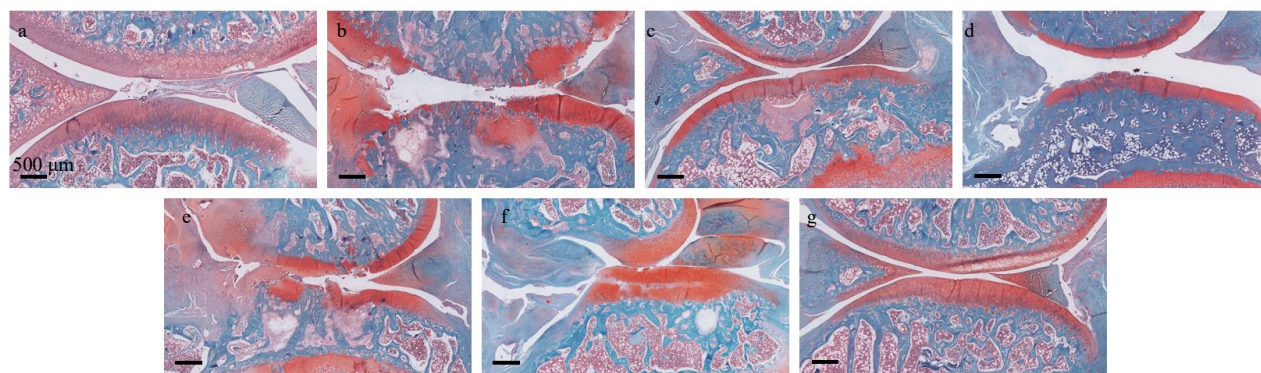


图 3 各组大鼠膝关节胫骨病理变化 (番红 O 固绿染色, $\times 50$)

Fig. 3 Pathological changes of tibia in knee joint of rats in each group (safranin O solid green staining, $\times 50$)

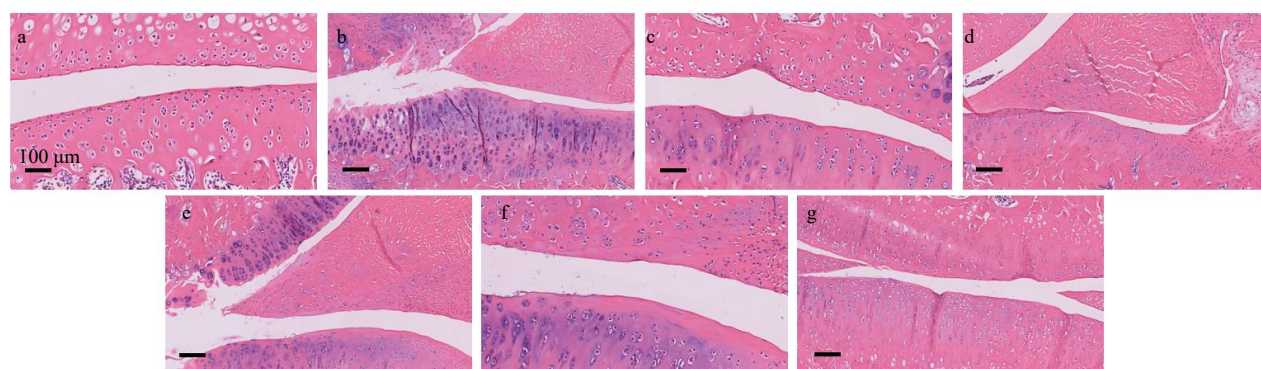


图 4 各组大鼠膝关节滑膜病理变化 (HE 染色, $\times 200$)

Fig. 4 Pathological changes of synovium in knee joint of rats in each group (HE staining, $\times 200$)

照组大鼠膝关节囊滑膜光滑, 衬里细胞层数正常, 无增殖现象, 滑膜组织细胞排列整齐, 炎症细胞少量存在, 数量正常。模型组大鼠膝关节软骨损伤退变区域的相关滑膜增厚, 衬里细胞大于 4 层, 滑膜下组织增生, 滑膜组织细胞排列紊乱, 数量减少, 炎性细胞浸润明显。活血止痛胶囊低剂量组大鼠膝关节软骨损伤退变区域的相关滑膜增厚, 衬里细胞 3~4 层, 滑膜下组织增生和部份炎性细胞浸润。活血止痛胶囊中剂量组大鼠膝关节软骨损伤退变区域减少, 其对应的滑膜增厚, 衬里细胞 3~4 层, 滑膜下组织增生和少量炎性细胞浸润。活血止痛胶囊高剂量组膝关节软骨膜的损伤少, 软骨膜损伤对应的滑膜衬里细胞 3~4 层, 滑膜组织轻度增生, 其余滑膜组织基本正常。盘龙七片组滑膜衬里细胞减少为 2~3 层, 在软骨损伤部位对应的滑膜组织存在轻微的增生, 炎症细胞数量基本正常。塞来昔布组滑膜衬里细胞层数减少, 大部分区域正常, 仅在软骨损伤附近滑膜衬里细胞层数为 2~3 层, 炎症细胞数量正常。

3.8 采用国际骨关节炎研究学会 (OA Research Society International, OARSI) 标准评估活血止痛胶囊药效

在 OA 治疗药物研发过程中, 最常用的实验动物模型是 OA 大鼠模型, 被用来评价药物的体内疗效。OARSI 在 2006 年版^[3]的基础上, 专门制定了全面描述用于不同大鼠 OA 模型的组织学评分系统, 以便对不同研究小组获得的结果进行标准化分析和比较^[2], 相较于 2006 版, 进一步细化分成软骨基质损失宽度、软骨退变评级、软骨退变宽度比、病变区域深度比、钙化软骨和软骨下骨损伤评级、滑膜反应评级 6 个方面^[4], 能够全面综合地评估药物对 OA 软骨及相关组织损伤的修复/预防程度。本研究采用 OARSI 制定的 2010 版大鼠 OA 评估标准, 评估病理检查结果, 见表 8。从结果可以看出, 模型组大鼠在软骨损伤宽度、软骨退变评分、软骨退变宽度、钙化软骨和软骨下骨以及滑膜反应各项指标和评分/评级中, 显著高于对照组; 活血止痛胶囊呈剂量相关性地逆转各项指标数据和评分。

表 8 OARSI 评分标准评估活血止痛胶囊的药效 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 8 Evaluation of efficacy of Huoxue Zhitong Capsules with OARSI scoring criteria ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	软骨基质损失宽度/ μm			总和	软骨退变评级		
		0%深度	100%深度	50%深度		分区 外侧	中部	内侧
对照	—	0	0	0	0	0	0	0
模型	—	3 180 $\pm$ 216	2 030 $\pm$ 208	2 420 $\pm$ 227	12	4	5	3
活血止痛胶囊	135	1 280 $\pm$ 131	0	1 080 $\pm$ 193	9	3	4	2
	270	282 $\pm$ 41	0	0	1	0	1	0
	540	769 $\pm$ 93	0	0	0	0	0	0
盘龙七片	283	845 $\pm$ 133	0	0	0	0	0	0
塞来昔布	18	1 101 $\pm$ 177	0	0	5	2	2	1

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	软骨退变宽度比/%		病变区域深度比	钙化软骨和软骨 下骨损伤评级	滑膜反应 评级
		总宽度	显著宽度			
对照	—	0	0	0	0	0
模型	—	97.0 $\pm$ 14.9	65.0 $\pm$ 11.1	0.70 $\pm$ 0.10	5	4
活血止痛胶囊	135	60.6 $\pm$ 7.4	52.2 $\pm$ 6.1	0.60 $\pm$ 0.12	4	3
	270	17.9 $\pm$ 4.6	0.0	0.06 $\pm$ 0.02	3	2
	540	6.5 $\pm$ 2.2	0.0	0.02 $\pm$ 0.01	1	1
盘龙七片	283	33.0 $\pm$ 17.7	0.0	0.00	2	1
塞来昔布	18	43.0 $\pm$ 8.3	0.0	0.16 $\pm$ 0.05	1	1

4 讨论

本研究从疼痛阈值、步态行为、骨微结构、膝关节病理、氧化应激水平、炎症因子水平以及相关功能蛋白的表达 7 个方面评价了活血止痛胶囊对 KOA 大鼠的药效作用。临床上,影像学的证据是临床诊断所有依据(症状、血液生化以及多种影像学检查)中最直接的、最有证据效力的手段。对于骨微结构的检测,相较于临床常规选择的 X 射线,CT 显示出了很大的优势。特别是在造模时间短、骨微结构变化不显著的情况时,X 射线的分辨率相对较低,很难精确比较骨微结构的变化^[5]。因此,本研究选用了小动物 CT 评价不同组大鼠膝关节骨微结构的变化,更有说服力地判断药物的治疗效果。模型大鼠膝关节疼痛的缓解常伴随着骨微结构改善,特别是骨密度的提高。而活血止痛胶囊中、高剂量组能够显著提高模型大鼠的痛阈,有效缓解疼痛。小动物 CT 检查大鼠骨微结构显示,活血止痛胶囊中、高剂量组能够有效逆转模型大鼠骨小梁数量、骨体积分数、各向异性程度、骨密度、骨小梁分离度和结构模型指数 6 个指标的水平。以上结果表明活血止痛胶囊具有较强的止痛作用。

OA 发生发展过程中通常会伴随大量自由基的产生和累积,关节内过量的氧自由基能够加速氧化应激反应,加剧软骨细胞损伤,抑制 ECM 合成,诱导 ECM 的崩解,推动 OA 病程发展^[6]。在 OA 病理状态下,软骨细胞损伤时 LDH 的活性明显升高;MDA 是脂膜氧化的产物,其含量的高低可间接反

映细胞受自由基攻击的严重程度。机体内 GSH 和 SOD 是重要的清除氧自由基系统,GSH 可以中和过氧化物、氧自由基,SOD 活力的高低反映机体清除氧自由基的能力^[7-8]。本研究结果表明,与模型组相比,活血止痛胶囊中、高剂量组能够有效逆转模型大鼠血清及软骨组织氧化应激相关指标 LDH、GSH、MDA 和 SOD 的水平,改善机体氧化应激状态。

炎症也是 OA 大鼠主要的病理特征之一。在 OA 病理状态下,关节滑液、滑膜以及软骨细胞释放大量的炎症介质及活性因子,与 OA 发生发展密切相关的细胞因子主要包括 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等^[9]。多种 IL 均参与病程发展,如 OA 患者关节腔内 IL-1 β 表达较高,诱导炎症反应和软骨分解,常被作为评估患者炎症状态的指标之一,还会诱导 iNOS 和 PGE₂ 含量增加,从而促进软骨细胞分解代谢,影响软骨修复。IL-6 促使软骨细胞损伤并丧失代偿能力,加剧炎症反应,促使 MMP 过量表达^[10-11]。TNF- α 引起的炎性分子应答与 IL-1 β 相似,均能加剧 OA 的进展^[12]。本研究发现,与模型组相比,活血止痛胶囊中、高剂量组能够显著下调血清及关节腔灌洗液中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、PGE₂、iNOS 的水平,具有显著的抗炎作用。

在 OA 发生时,ECM 无法维持稳态,合成与分解失衡,最终导致 ECM 的分解与关节软骨的破坏^[13]。Collagen II 是关节软骨 ECM 的主要成分,由软骨细胞合成并分泌,可编织成网状结构起支架作用,膝关节软骨 ECM 中 Collagen II 合成减少与过度降解

是造成膝关节软骨破坏的重要原因之一^[14-15]；MMP13、TIMP-1、ADAMTs 是软骨 ECM 中存在的分解代谢相关酶，MMP13 对 Collagen II 及其他 ECM 成分的水解起到关键作用^[15-16]。正常生理状态下 TIMP-1 能够特异性抑制 MMPs，使其处于无活性或低活性状态，在 OA 软骨退变晚期其表达减弱^[17]。ADAMTs 是一种与 ECM 结合的分泌性蛋白，参与 ECM 降解、凝血、炎症反应等，ADAMTS5 是 ADAMTs 家族中最有效力并且发挥主要作用的蛋白聚糖酶之一。ADAMTS5 基因敲除可以有效减轻 OA 的病变^[18-19]。本研究发现，与模型组相比，活血止痛胶囊中、高剂量组显著上调了 Collagen II 和 TIMP-1 的表达，下调了 MMP-13 和 ADAMTS5 的表达，表明活血止痛胶囊有效抑制大鼠 OA 软骨 ECM 降解，恢复 ECM 合成与分解的平衡，修复软骨损伤。

综上，活血止痛胶囊能够呈剂量相关性地缓解 OA 大鼠的疼痛阈值、步态行为、关节骨微结构改变和软骨损伤，活血止痛胶囊高剂量组与阳性对照药物盘龙七片和塞来昔布疗效相当，其药效作用是通过抗氧化应激、抗炎和调控软骨 ECM 的合成和分解平衡来实现的。本研究为活血止痛胶囊在临床的推广应用提供了实验依据，并为其深入机制研究奠定基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Lo G H, Strayhorn M T, Driban J B, *et al.* Subjective crepitus as a risk factor for incident symptomatic knee osteoarthritis: Data from the osteoarthritis initiative [J]. *Arthritis Care Res*, 2018, 70(1): 53-60.
- [2] Larsson S, Englund M, Struglics A, *et al.* Interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha in synovial fluid are associated with progression of radiographic knee osteoarthritis in subjects with previous meniscectomy [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, 23(11): 1906-1914.
- [3] Pritzker K P H, Gay S, Jimenez S A, *et al.* Osteoarthritis cartilage histopathology: Grading and staging [J]. *Osteoarthr Cartil*, 2006, 14(1): 13-29.
- [4] Gerwin N, Bendele A M, Glasson S, *et al.* The OARSI histopathology initiative-recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(Suppl 3): S24-S34.
- [5] 蓝天明. X 射线平片和 CT 影像在骨盆骨折检查中的准确性对比 [J]. *智慧健康*, 2023, 9(16): 5-8.
- [6] 赵青松, 李欢, 徐鹏, 等. 骨关节炎 (OA) 的发病机制研究现状 [J]. *生物骨科材料与临床研究*, 2022, 19(3): 77-80.
- [7] Marchev A S, Dimitrova P A, Burns A J, *et al.* Oxidative stress and chronic inflammation in osteoarthritis: Can NRF2 counteract these partners in crime? [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2017, 1401(1): 114-135.
- [8] 杨光, 惠越, 陈奎, 等. 苍术内酯 II 对骨关节炎大鼠软骨损伤、血清炎症因子和氧化应激的调节作用及机制研究 [J]. *中医学报*, 2021, 36(3): 601-607.
- [9] Jain S, Tripathi S, Tripathi P K. Antioxidant and antiarthritic potential of berberine: *In vitro* and *in vivo* studies [J]. *Chin Herb Med*, 2023, 15(4): 549-555.
- [10] Scuruchi M, D'Ascola A, Avenoso A, *et al.* Serglycin as part of IL-1 β induced inflammation in human chondrocytes [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2019, 669: 80-86.
- [11] Chen J, Wang C, Huang K M, *et al.* Acacetin suppresses IL-1 β -induced expression of matrix metalloproteinases in chondrocytes and protects against osteoarthritis in a mouse model by inhibiting NF- κ B signaling pathways [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 2328401.
- [12] Zhang J T, Li Q Y, Chang S Y. The effects of particle density in moxa smoke on the ultrastructure of knee cartilage and expressions of TNF- α , IL-1 β , BAX, and Bcl-2 mRNA in a rat model for osteoarthritis [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(4): 6589-6595.
- [13] 徐晶, 蒋涛. 骨关节炎的发病机制及部分基于其发病机制的中药治疗进展 [J]. *药物生物技术*, 2022, 29(3): 326-330.
- [14] Bay-Jensen A C, Mobasheri A, Thudium C S, *et al.* Blood and urine biomarkers in osteoarthritis-an update on cartilage associated type II collagen and aggrecan markers [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2022, 34(1): 54-60.
- [15] Goldring M B, Otero M, Plumb D A, *et al.* Roles of inflammatory and anabolic cytokines in cartilage metabolism: Signals and multiple effectors converge upon MMP-13 regulation in osteoarthritis [J]. *Eur Cell Mater*, 2011, 21: 202-220.
- [16] Rigoglou S, Papavassiliou A G. The NF- κ B signalling pathway in osteoarthritis [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(11): 2580-2584.
- [17] 乔长峰, 杨开舜. MMP-13、TIMP-1 在兔骨关节炎模型的表达及其意义 [J]. *中国现代医生*, 2009, 47(3): 39-41.
- [18] Glasson S S, Askew R, Sheppard B, *et al.* Deletion of active ADAMTS5 prevents cartilage degradation in a murine model of osteoarthritis [J]. *Nature*, 2005, 434(7033): 644-648.
- [19] Stanton H, Rogerson F M, East C J, *et al.* ADAMTS5 is the major aggrecanase in mouse cartilage *in vivo* and *in vitro* [J]. *Nature*, 2005, 434(7033): 648-652.

[责任编辑 李亚楠]