

· 基础研究 ·

蠲痹胶囊对膝骨关节炎豚鼠关节软骨组织形态及滑膜中 Toll 样受体 4、NF- κ B p65 及肿瘤坏死因子- α 表达的影响

袁普卫¹, 李小群¹, 康武林¹, 董博¹, 陈斌², 张晓亮², 刘德玉¹

(1. 陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712000;

2. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046)

摘要 目的:观察蠲痹胶囊对膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)豚鼠关节软骨组织形态及滑膜中 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)、NF- κ B p65 及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)表达的影响,探讨其治疗 KOA 的可能作用机制。**方法:**将 40 只 1 月龄豚鼠随机分为正常组、3 月龄组、5 月龄组、氨基葡萄糖组和蠲痹胶囊组,每组 8 只。分组后正常组豚鼠直接进行标本采集,其余 4 组饲养至 3 月龄建立自发性 KOA 模型。造模结束后,3 月龄组豚鼠进行标本采集;5 月龄组、氨基葡萄糖组和蠲痹胶囊组分别以纯水、盐酸氨基葡萄糖胶囊和蠲痹胶囊灌胃,每天 1 次,连续干预 2 个月后进行标本采集。采集标本为豚鼠左后下肢膝关节腔下韧带表面的滑膜和胫骨内侧平台软骨,制成石蜡切片。软骨组织切片以番红固绿染色后光镜下观察软骨组织形态,采用 Mankin's 病理评分标准进行评分;滑膜组织切片进行免疫组织化学染色(SP 法),用 Image-pro Plus 6.0 图像分析软件对阳性染色的平均光密度值进行半定量分析,测定指标包括 TLR4、NF- κ B p65 及 TNF- α 的表达水平。**结果:**5 组豚鼠关节软骨 Mankin's 评分比较,差异有统计学意义[(0.132 \pm 0.125)分, (5.011 \pm 0.180)分, (7.324 \pm 0.293)分, (4.250 \pm 0.250)分, (2.500 \pm 0.327)分, $F=108.400$, $P=0.000$];3 月龄组评分高于正常组($P=0.000$),5 月龄组评分高于 3 月龄组($P=0.000$),氨基葡萄糖组评分低于 5 月龄组($P=0.000$),蠲痹胶囊组评分低于氨基葡萄糖组($P=0.000$)。5 组豚鼠关节滑膜中 TLR4、NF- κ B p65 及 TNF- α 表达量比较,组间差异均有统计学意义(0.000 \pm 0.000, 0.268 \pm 0.021, 0.454 \pm 0.043, 1.879 \pm 0.013, 0.116 \pm 0.015, $F=97.000$, $P=0.000$; 0.023 \pm 0.019, 0.251 \pm 0.142, 0.525 \pm 0.103, 0.217 \pm 0.087, 0.211 \pm 0.019, $F=40.293$, $P=0.000$; 0.047 \pm 0.023, 0.386 \pm 0.142, 0.812 \pm 0.174, 0.289 \pm 0.151, 0.204 \pm 0.108, $F=78.242$, $P=0.000$);3 月龄组 TLR4、NF- κ B p65 及 TNF- α 表达量均高于正常组($P=0.000$, $P=0.000$, $P=0.000$),5 月龄组 TLR4、NF- κ B p65 及 TNF- α 表达量均高于 3 月龄组($P=0.000$, $P=0.000$, $P=0.000$),氨基葡萄糖组 TLR4、NF- κ B p65 及 TNF- α 表达量均低于 5 月龄组($P=0.000$, $P=0.000$, $P=0.000$),蠲痹胶囊组 TLR4、NF- κ B p65 及 TNF- α 表达量均低于氨基葡萄糖组($P=0.011$, $P=0.019$, $P=0.008$)。**结论:**蠲痹胶囊和盐酸氨基葡萄糖均可延缓 KOA 豚鼠关节软骨退变,蠲痹胶囊的作用更加明显;其作用机制可能是通过激活 TLR4/NF- κ B 信号转导通路来抑制炎症因子 TNF- α 表达,从而减轻组织炎症反应。

关键词 骨关节炎,膝;Toll 样受体 4;NF- κ B;肿瘤坏死因子 α ;软骨,关节;滑膜;蠲痹胶囊;氨基葡萄糖;豚鼠;动物实验

Impact of Juanbi Jiaonang(蠲痹胶囊, JBJN) on articular cartilage tissue form and expression of Toll-like receptor 4, NF- κ B p65 and tumor necrosis factor- α in synovium in guinea pigs with knee osteoarthritis

YUAN Puwei¹, LI Xiaoqun¹, KANG Wulin¹, DONG Bo¹, CHEN Bin², ZHANG Xiaoliang², LIU Deyu¹

1. The Affiliated Hospital of Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712000, Shanxi, China

2. Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang 712046, Shanxi, China

ABSTRACT Objective:To observe the impact of Juanbi Jiaonang(蠲痹胶囊, JBJN) on articular cartilage tissue form and expression of Toll-like receptor 4(TLR4), NF- κ B p65 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in synovium in guinea pigs with knee osteoarthritis (KOA), and to explore the possible mechanism of action of JBJN in the treatment of KOA. **Methods:** Forty 1-month-old guinea pigs were randomly divided into normal group, 3-month-old group, 5-month-old group, glucosamine group and JBJN group, 8 cases in each

基金项目:国家自然科学基金项目(81574006);陕西省重点科技创新团队项目(2013KCT-26);陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2010JM4002);陕西省科学技术研究发展计划项目(2011kjxx33);咸阳市科学技术研究项目[2010K15-02(9)];全国名老中医专家李堪印传承工作室建设项目

通讯作者:袁普卫 E-mail:spine_surgeon@163.com

group. After grouping, the specimens were collected directly in normal group, while the guinea pigs in the other 4 groups were bred continuously and spontaneous KOA models were built when they were 3 months old. After modeling, the specimens were collected in 3-month-old group, while the guinea pigs in 5-month-old group, glucosamine group and JBJN group were intragastric administrated with pure water, glucosamine hydrochloride capsules and JBJN respectively, once a day for consecutive 2 months, and then the specimens were collected. The superficial synovium of infrapatellar ligament and the medial tibial plateau cartilage were collected from the knee of left posterior-inferior extremity and were made into paraffin sections. The cartilage tissue sections were received safranin-fast green staining and the cartilage tissue forms were observed under optical microscope and were evaluated according to Mankin score. The synovium tissue sections were received immunohistochemical staining (SP method), and the semiquantitative analysis were carried out on the average optical density value of the positive staining by using Image-pro Plus 6.0 image analysis software, and the main measuring indexes included the expression level of TLR4, NF- κ B p65 and TNF- α . **Results:** There was statistical differences in Mankin scores of articular cartilage between the 5 groups ($0.132 \pm 0.125, 5.011 \pm 0.180, 7.324 \pm 0.293, 4.250 \pm 0.250, 2.500 \pm 0.327$ points, $F = 108.400, P = 0.000$), and 3-month-old group surpassed normal group ($P = 0.000$), and 5-month-old group surpassed 3-month-old group ($P = 0.000$) and glucosamine group ($P = 0.000$), and glucosamine group surpassed JBJN group ($P = 0.000$). There was statistical differences in the expression level of TLR4, NF- κ B p65 and TNF- α in the articular synovium between the 5 groups ($0.000 \pm 0.000, 0.268 \pm 0.021, 0.454 \pm 0.043, 1.879 \pm 0.013, 0.116 \pm 0.015, F = 97.000, P = 0.000; 0.023 \pm 0.019, 0.251 \pm 0.142, 0.525 \pm 0.103, 0.217 \pm 0.087, 0.211 \pm 0.019, F = 40.293, P = 0.000; 0.047 \pm 0.023, 0.386 \pm 0.142, 0.812 \pm 0.174, 0.289 \pm 0.151, 0.204 \pm 0.108, F = 78.242, P = 0.000$), and 3-month-old group surpassed normal group ($P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$), and 5-month-old group surpassed 3-month-old group ($P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$) and glucosamine group ($P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000$), and glucosamine group surpassed JBJN group ($P = 0.011, P = 0.019, P = 0.008$). **Conclusion:** Both JBJN and glucosamine hydrochloride can delay the articular cartilage degeneration in guinea pigs with KOA and the former has more significant effect. JBJN can inhibit the expression of inflammatory factor TNF- α through activating LR4/NF- κ B signaling pathway, which may be the mechanism of action.

Key words osteoarthritis, knee; Toll-like receptor 4; NF- κ B; tumor necrosis factor- α ; cartilage, articular; synovial membrane; Juanbi Jiaonang; glucosamine; guinea pigs; animal experimentation

膝骨关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 是一种常见的发生于中老年人的退行性关节病^[1], 国内的流行病学研究显示其发病率较高^[2], 而且随着我国人口老龄化的加剧呈现逐渐增高的趋势^[3]。我们既往的一些研究表明, 罂痹胶囊能显著降低 KOA 模型动物膝关节滑液中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1、白细胞介素-6 水平及血清中基质金属蛋白酶-2、基质金属蛋白酶-9、水通道蛋白1、水通道蛋白3的含量, 延缓 OA 软骨退变^[4-5]。为进一步探讨罂痹胶囊治疗 KOA 的可能作用机制, 本研究观察了罂痹胶囊对 KOA 豚鼠关节软骨组织形态及滑膜中 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)、NF- κ B p65 及 TNF- α 表达的影响, 现总结报告如下。

1 材料与仪器

1.1 实验动物 1 月龄普通级雌性豚鼠 40 只, 体重 (240.00 \pm 17.45) g, 由第四军医大学实验动物中心提供, 实验动物许可证号: SCXK-(军)2012-0006。实验方案通过医院医学实验动物伦理委员会批准。

1.2 药物与试剂 罂痹胶囊 (陕西中医药大学附属

医院药剂科), 药物组成包括淫羊藿 15 g、肉苁蓉 12 g、生黄芪 30 g、骨碎补 12 g、牛膝 12 g、熟地黄 12 g、当归 12 g、白芍 15 g、生甘草 6 g; 盐酸氨基葡萄糖胶囊 (浙江诚意药业股份有限公司, 国药准字 H20060748)。4% 多聚甲醛、二甲苯、番红 O、固绿 (Sigma 公司), EDTA-2Na、苏木素-伊红染色试剂盒、抗豚鼠 TLR4 单克隆抗体、抗豚鼠 NF- κ B p65 多克隆抗体、抗豚鼠 TNF- α 单克隆抗体 [艾博抗 (上海) 贸易有限公司], 兔 SP 检测试剂盒、DAB 显色试剂盒 (北京中衫金桥生物有限公司)。

1.3 实验仪器 RM2135 石蜡切片机 (Leica 公司), 电子显微镜 (Olympus 公司), DXM1200F 数码相机 (Nikon 公司)。

2 方法

2.1 分组及造模 适应性喂养 3 d 后, 将 40 只豚鼠随机分为正常组、3 月龄组、5 月龄组、氨基葡萄糖组和罂痹胶囊组, 每组 8 只。分组后正常组豚鼠直接进行标本采集, 其余 4 组饲养至 3 月龄建立自发性 KOA 模型^[6-7]。

2.2 药物干预 自发性造模结束后, 3 月龄组豚鼠直接进行标本采集。5 月龄组、氨基葡萄糖组和罂痹

胶囊组分别以纯水、盐酸氨基葡萄糖胶囊和薏痹胶囊灌胃,每天 1 次,连续干预 2 个月后进行标本采集。豚鼠用药剂量 = $5.42 \times X \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $X \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 代表该药物在人体应用时的临床剂量,盐酸氨基葡萄糖胶囊和薏痹胶囊使用时以纯水溶解后灌胃。药物干预期间 5 月龄组、氨基葡萄糖组和薏痹胶囊组豚鼠 2 周称重一次,并根据测定结果调整后期用药剂量。

2.3 标本采集处理及实验观察 用 10% 水合氯醛溶液按 $3.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 进行腹腔注射麻醉后,将豚鼠仰卧位固定,取左后下肢膝关节髌下韧带表面的滑膜和胫骨内侧平台软骨。观察大体形态后置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 24 h,用 PBS 冲洗 3 次,每次 10 min。冲洗完后将软骨标本用 10% EDTA 脱钙约 4 周,脱钙完成后进行石蜡包埋并切片,分别进行 HE 染色和番红固绿染色后光镜下观察软骨组织形态,并按照番红固绿染色观察结果采用 Mankin's 病理评分标准^[8]进行评分;滑膜标本进行石蜡包埋并切片,一部分切片进行 HE 染色后光镜下观察滑膜组织形态,另一部分进行免疫组织化学染色(SP 法),用 Image-pro Plus 6.0 图像分析软件对阳性染色的平均光密度值进行半定量分析,测定指标包括 TLR4、NF- κ B p65 及 TNF- α 的表达水平。

2.4 数据统计分析 采用 GraphPad Prism 5.0 软件

进行数据统计分析,5 组豚鼠关节软骨 Mankin's 评分及滑膜中 TLR4、NF- κ B p65、TNF- α 表达水平的组间整体比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

3 结果

3.1 大体观察 正常组膝关节软骨平滑光整,呈淡蓝色、无裂纹及软化灶;关节液透明,未见炎症反应;滑膜无肥厚增生[图 1(1),图 2(1)]。3 月龄组膝关节外观呈乳白色,透明度差,关节面无破溃,但不平整,部分关节面出现软化灶,胫骨髁及股骨髁处软骨硬化;关节液呈滤泡样的黄色改变,质地略黏稠;滑膜呈现乳黄色,轻度肥厚[图 1(2),图 2(2)]。5 月龄组膝关节外观呈淡黄色改变,关节面无光泽;关节软骨变薄,弹性较差,部分软骨面有裂纹及破溃;关节液少而黏稠,呈黄色滤泡样;髌骨下滑膜肥厚,凹凸不平[图 1(3),图 2(3)]。氨基葡萄糖组膝关节外观稍白,关节面平整,无明显凹陷,软骨透明度一般;关节液略增多,呈淡黄色,部分关节液可见少量滤泡产生;髌骨下滑膜呈淡黄色,轻度肥厚[图 1(4),图 2(4)]。薏痹胶囊组与正常组相比,总体上无明显异常改变,膝关节外观稍白,关节面光滑,光泽度稍差,未见裂纹及软骨面破溃,软骨透明度尚可;髌骨下滑膜呈淡黄色,未见明显肥厚[图 1(5),图 2(5)]。

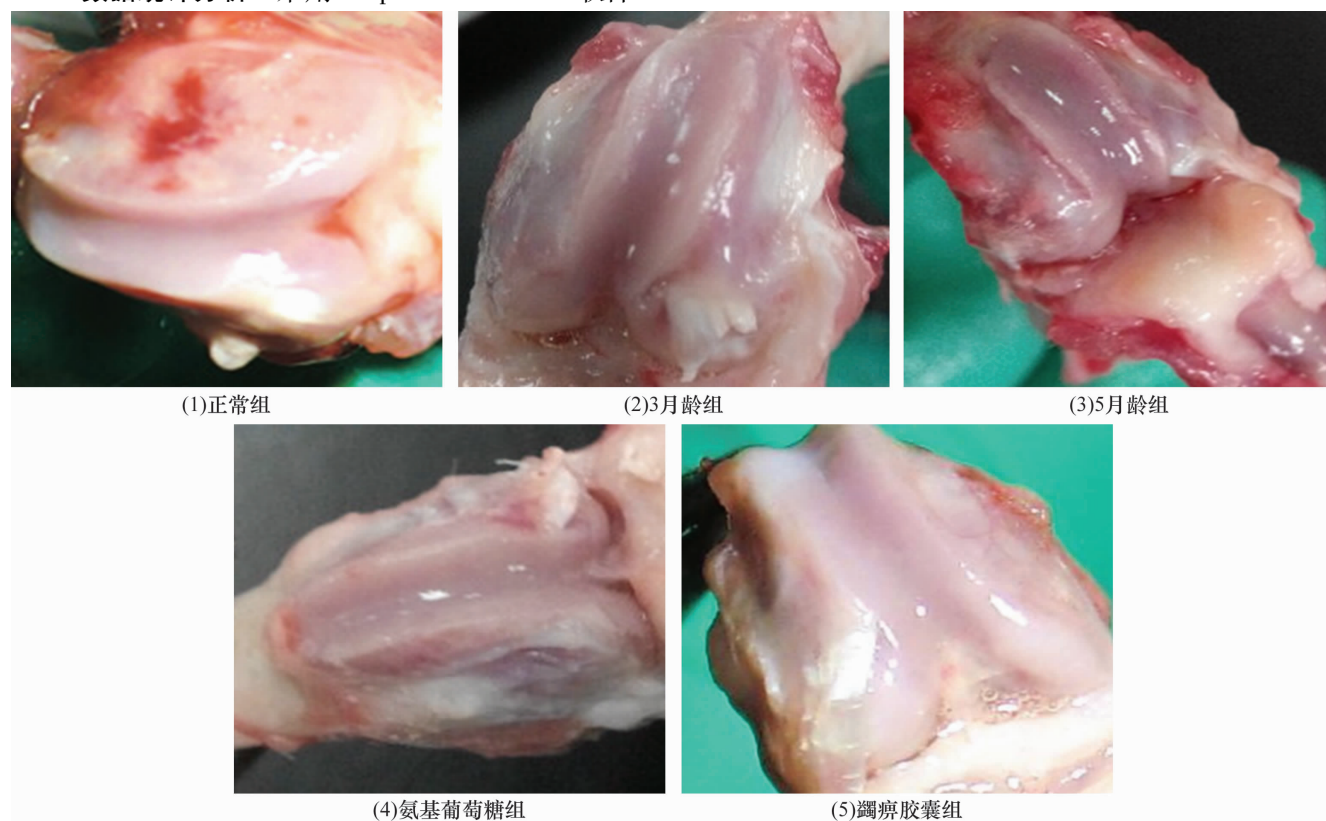


图 1 5 组豚鼠膝关节软骨外观

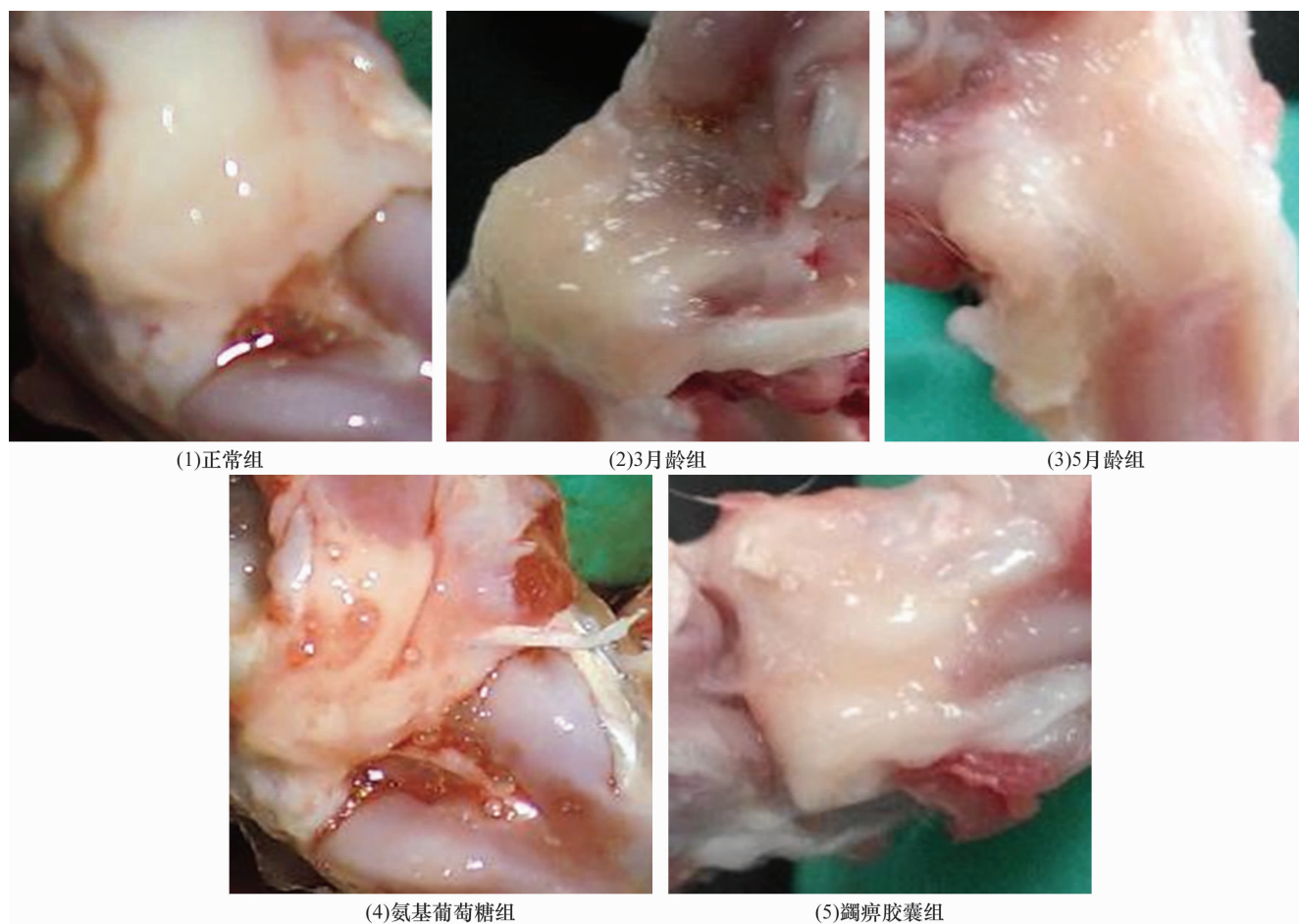


图 2 5 组豚鼠膝关节滑膜外观

3.2 组织学观察

3.2.1 软骨组织 正常组软骨细胞呈梭形、圆形、柱状,排列整齐有序,未见细胞基质溶解,潮线完整[图 3(1),图 4(1)];3 月龄组梭形软骨细胞无明显肥大,细胞排列不规则,软骨下骨小梁无断裂及裂隙,软骨陷窝增多,潮线完整[图 3(2),图 4(2)];5 月龄组梭形软骨细胞排列比 3 月龄组更加紊乱,部分梭形软骨细胞肥大,圆形和柱状细胞排列紊乱,软骨下骨小梁变薄,软骨陷窝增多,潮线较完整[图 3(3),图 4(3)];氨基葡萄糖组梭形软骨细胞排列紊乱,少量梭形细胞肥大,圆形和柱状细胞排列欠整齐,软骨下骨小梁未见裂隙及断裂,潮线完整[图 3(4),图 4(4)];瘢痕胶囊组梭形软骨细胞出现轻度变形,但排列整齐,圆形和柱状细胞排列整齐,软骨下骨小梁未见明显裂隙及断裂,潮线完整[图 3(5),图 4(5)]。5 组豚鼠关节软骨 Mankin's 评分比较,差异有统计学意义;3 月龄组评分高于正常组($P=0.000$),5 月龄组评分高于 3 月龄组($P=0.000$),氨基葡萄糖组评分低于 5 月龄组($P=0.000$),瘢痕胶囊组评分低于氨基葡萄糖组($P=0.000$)。见表 1。

3.2.2 滑膜组织 正常组滑膜未见炎症反应、无肥厚增生,滑膜细胞 2~3 层、排列整齐[图 5(1)];3 月龄组滑膜轻度肥厚,滑膜细胞为 5~8 层、排列紊乱,但无明显的滑膜褶皱[图 5(2)];5 月龄组髌骨下滑膜肥厚、凹凸不平,滑膜组织形态紊乱,滑膜皱襞较多[图 5(3)];氨基葡萄糖组髌骨下滑膜轻度肥厚,滑膜细胞排列相对整齐,滑膜中可见少量炎性细胞浸润[图 5(4)];瘢痕胶囊组髌骨下滑膜未见明显肥厚,滑膜组织与正常组相比总体无明显异常改变[图 5(5)]。5 组豚鼠关节滑膜中 TLR4、NF- κ B p65 及 TNF- α 表达量比较,组间差异均有统计学意义;3 月龄组 TLR4、NF- κ B p65 及 TNF- α 表达量均高于正常组($P=0.000$, $P=0.000$, $P=0.000$),5 月龄组 TLR4、NF- κ B p65 及 TNF- α 表达量均高于 3 月龄组($P=0.000$, $P=0.000$, $P=0.000$),氨基葡萄糖组 TLR4、NF- κ B p65 及 TNF- α 表达量均低于 5 月龄组($P=0.000$, $P=0.000$, $P=0.000$),瘢痕胶囊组 TLR4、NF- κ B p65 及 TNF- α 表达量均低于氨基葡萄糖组($P=0.011$, $P=0.019$, $P=0.008$)。见图 6 至图 8、表 1。

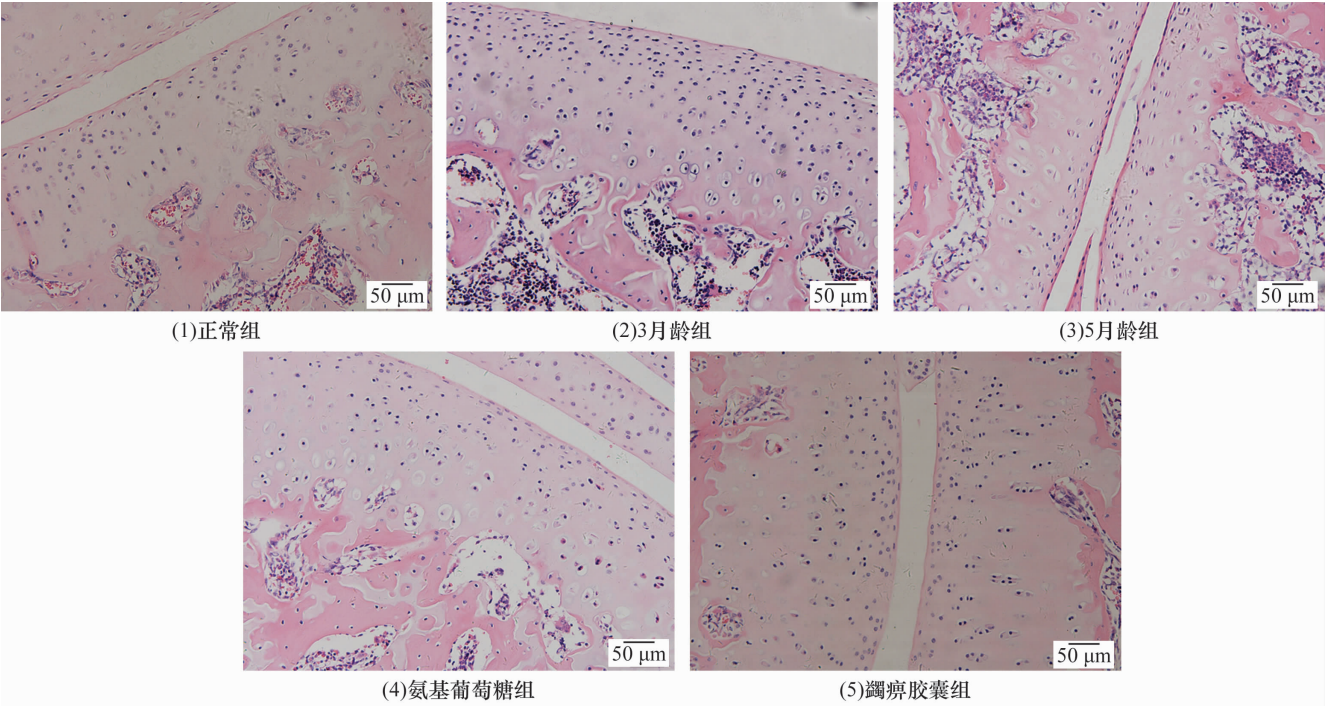


图 3 5 组豚鼠膝关节软骨组织形态 (HE 染色 ×10)

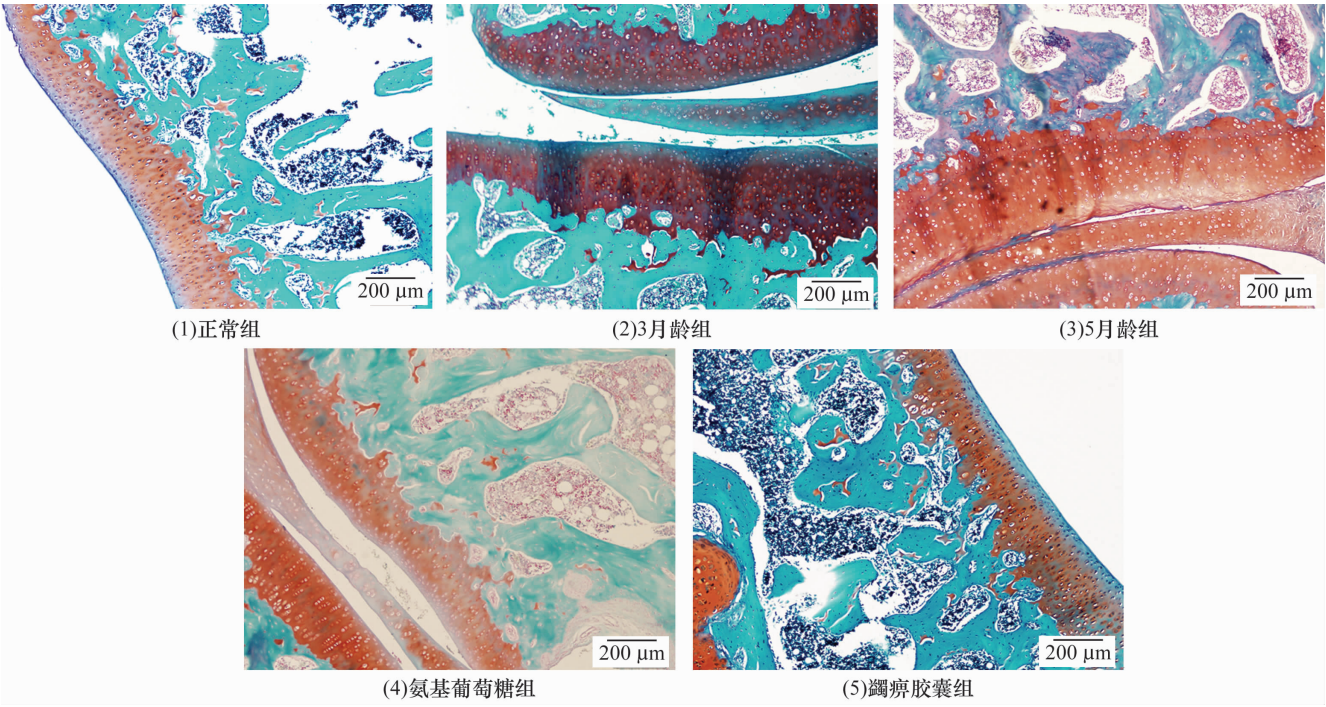
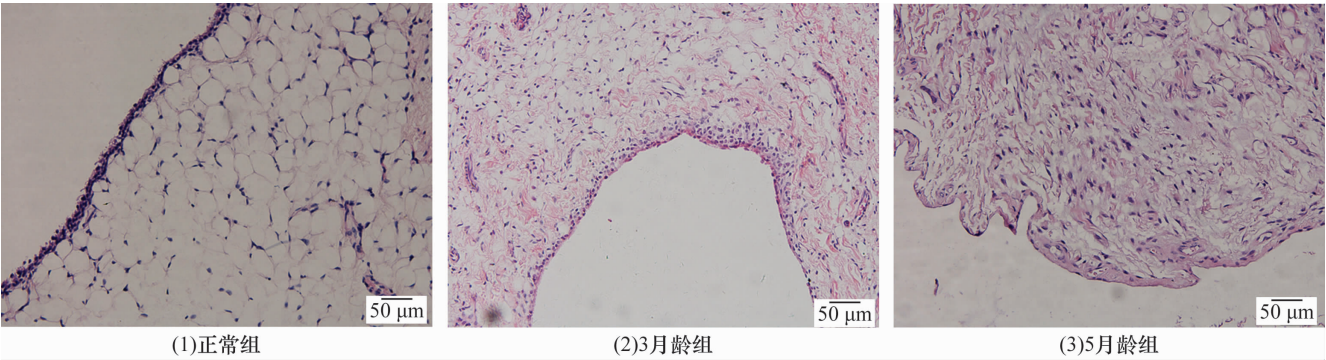


图 4 5 组豚鼠膝关节软骨组织形态 (番红固绿染色 ×4)



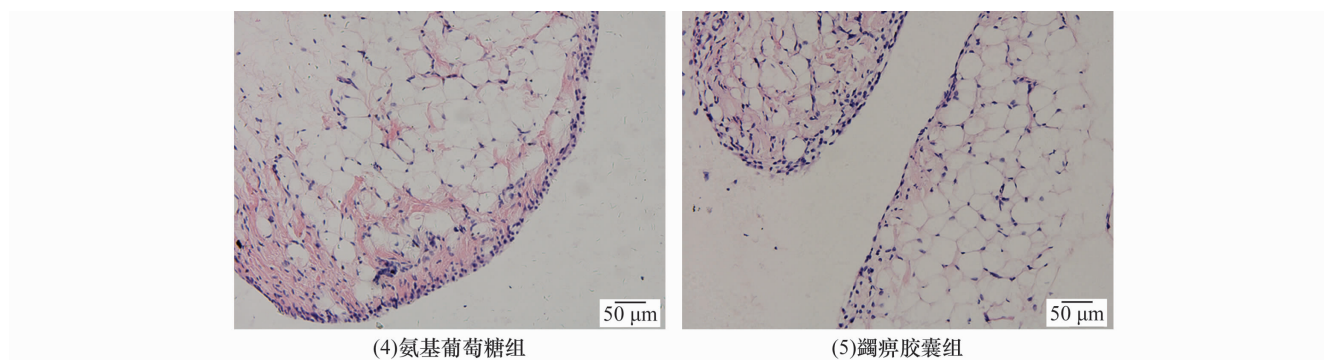


图 5 5 组豚鼠膝关节滑膜组织形态 (HE 染色 $\times 10$)

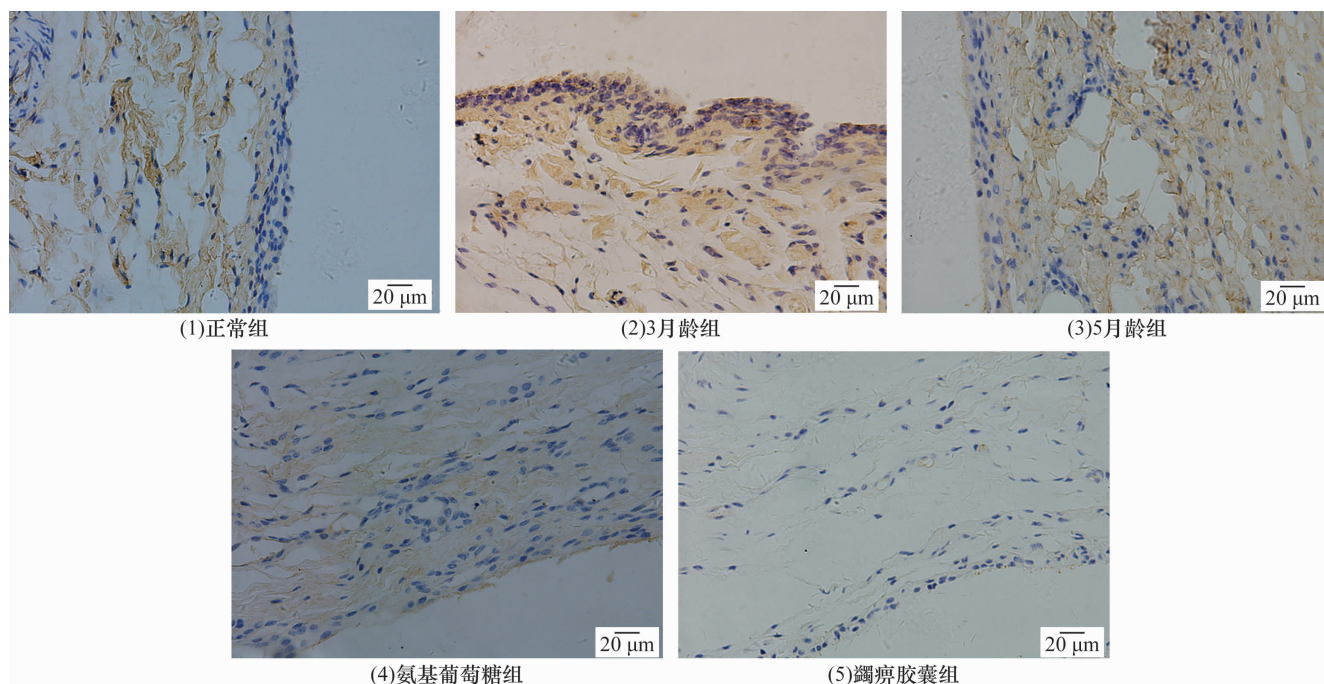


图 6 5 组豚鼠膝关节滑膜组织中 TLR4 表达情况 (SP 染色 $\times 20$)

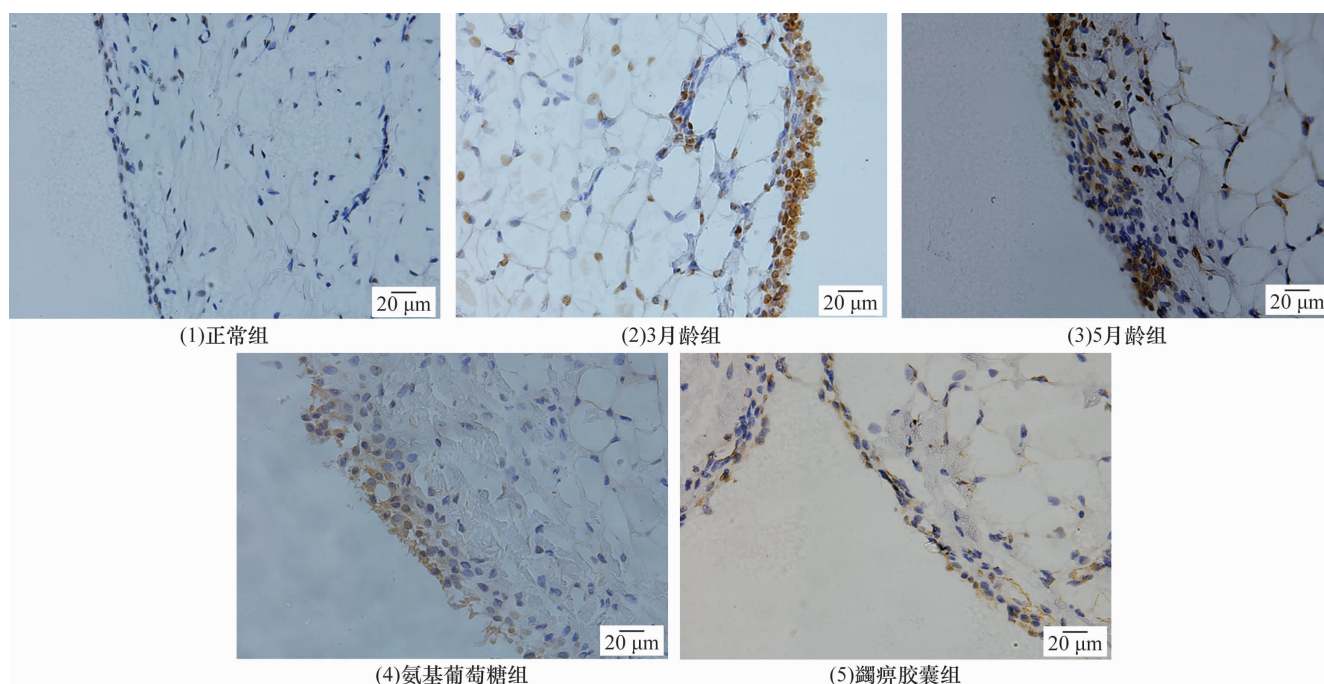


图 7 5 组豚鼠膝关节滑膜组织中 NF- κ B p65 表达情况 (SP 染色 $\times 20$)

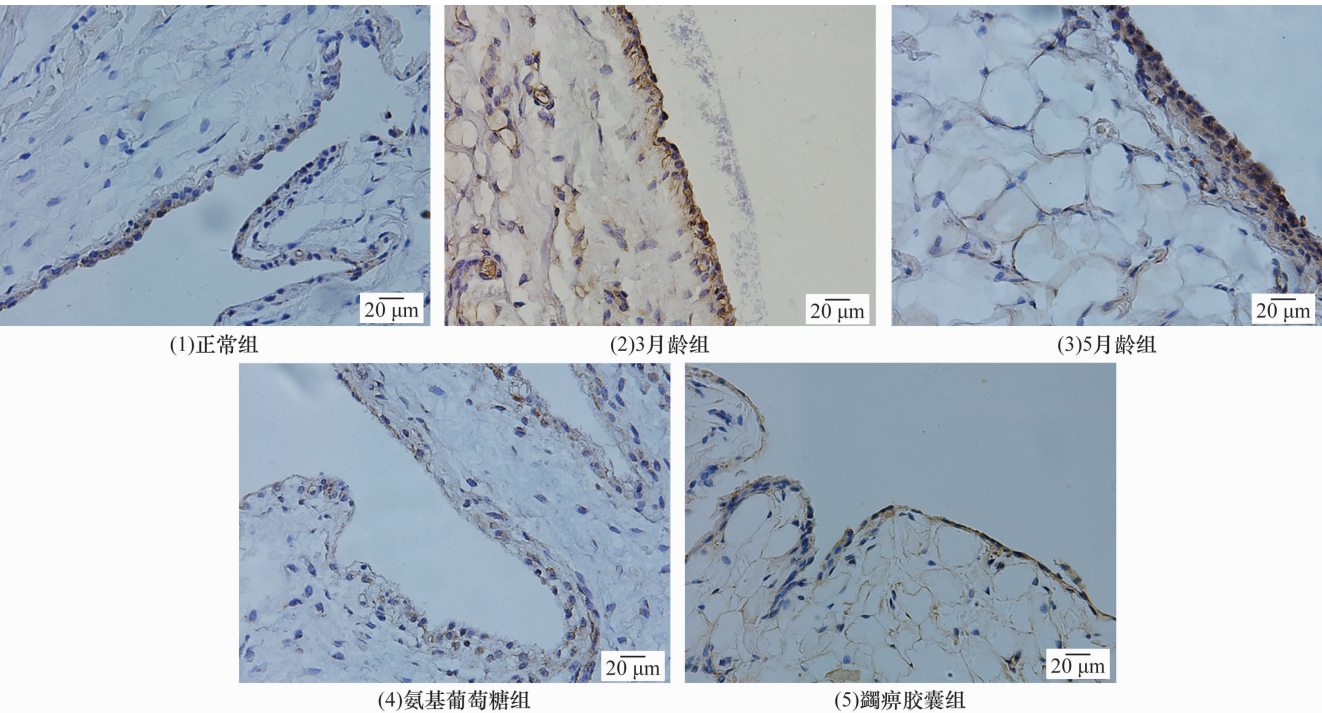


图 8 5 组豚鼠膝关节滑膜组织中 TNF - α 表达情况 (SP 染色 ×20)

表 1 5 组豚鼠膝关节软骨 Mankin's 评分及滑膜中 TLR4、NF - κB p65、TNF - α 表达情况 $\bar{x} \pm s$

组别	样本量 (只)	Mankin's 评分 (分)	TLR4	NF - κB p65	TNF - α
正常组	8	0.132 ± 0.125	0.000 ± 0.000	0.023 ± 0.019	0.047 ± 0.023
3 月龄组	8	5.011 ± 0.180	0.268 ± 0.021	0.251 ± 0.142	0.386 ± 0.142
5 月龄组	8	7.324 ± 0.293	0.454 ± 0.043	0.525 ± 0.103	0.812 ± 0.174
氨基葡萄糖组	8	4.250 ± 0.250	1.879 ± 0.013	0.217 ± 0.087	0.289 ± 0.151
蠲痹胶囊组	8	2.500 ± 0.327	0.116 ± 0.015	0.211 ± 0.019	0.204 ± 0.108
F 值		108.400	97.000	40.293	78.242
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

4 讨 论

TLR4 是最早被发现的 TLR 家族成员,在细菌感染和自身免疫性疾病中起重要作用。根据信号转导过程中衔接蛋白的不同,TLR4 信号转导通路可分为 MyD88 依赖性或非依赖性信号转导通路。这些信号通路激活细胞内信号转导,引起胞质区 NF - κB 活化,从而激活炎症转录程序,导致白细胞介素 - 1、白细胞介素 - 6 及 TNF - α 等炎性细胞因子释放,产生级联炎症反应^[9]。NF - κB 是广泛存在于胞浆的一种快反应转录因子,典型的 NF - κB 由 p65 和 p50 两个亚基组成,常与其抑制性蛋白结合而呈非活性状态,可被多种刺激因素激活,TLR4/MyD88 信号通路就是其中之一^[10]。

OA 属中医学“骨痹”范畴,认为其病因病机为“本虚标实”。肝肾亏虚,筋骨失养为本虚;邪气痹阻,经络不畅为标实。肝肾亏虚是该病发生的

根本,寒湿阻滞,血瘀气滞等则是其诱发因素。陕西省名老中医李堪印教授根据 KOA 的中医病机,提出了以补肾益气为主的治疗方法。蠲痹胶囊就是根据这一治法并结合临床经验确定的经验方,全方以补肾益气为主法,兼有补肝、补血之功效。方中淫羊藿温肾壮阳、强筋骨、祛风湿,肉苁蓉补肾阳、益精血,生黄芪补气固表,当归补血,骨碎补活血续筋、补肾壮骨,牛膝补肝肾、强筋骨、活血通经、引(火)血下行,熟地黄补精益髓,芍药、甘草缓急止痛。全方体现了张景岳“善补阳者,阴中求阳”的中医气血阴阳双补的立法思想。现代医学研究也表明,补肾药能够通过下丘脑 - 垂体 - 肾上腺 - 胸腺轴网络,调节机体性腺能力,促进性激素分泌代谢,提升机体的免疫功能,从而起到治疗疾病的作用^[11-14]。

本研究的结果提示,蠲痹胶囊和盐酸氨基葡萄糖均可延缓 KOA 豚鼠关节软骨退变,蠲痹胶囊的作用

更加明显;其作用机制可能是通过激活 TLR4/NF- κ B 信号转导通路来抑制炎症因子 TNF- α 表达,从而减轻组织炎症反应。

5 参考文献

- [1] Loeser RF. Osteoarthritis year in review 2013: biology[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2013, 21(10): 1436-1442.
- [2] 张建新, 王和鸣, 吴超英, 等. 泉州市中老年人退行性膝骨关节炎的流行病学调查[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2007, 15(2): 4-5.
- [3] Li H, Li L, Min J, et al. Levels of metalloproteinase (MMP-3, MMP-9), NF- κ B ligand (RANKL), and nitric oxide (NO) in peripheral blood of osteoarthritis (OA) patients[J]. Clin Lab, 2012, 58(7/8): 755-762.
- [4] 杨镇源. 罂粟胶囊防治性给药后对 KOA 兔关节液中 IL-1、IL-6、TNF- α 的影响[D]. 咸阳: 陕西中医学院, 2010.
- [5] 康武林, 袁普卫, 张根印, 等. 补肾益气法中药预防用药对膝骨性关节炎兔血清中 AQP1 及 AQP3 表达的影响[J]. 四川中医, 2014, 32(11): 32-35.
- [6] Muraoka T, Hagino H, Okano T, et al. Role of subchondral bone in osteoarthritis development: a comparative study of two strains of guinea pigs with and without spontaneously occurring osteoarthritis [J]. Arthritis Rheum, 2007, 56(10): 3366-3374.
- [7] 肖萍, 董妙珠, 叶于薇, 等. 不同月龄豚鼠原发性骨关节炎的病理变化[J]. 环境与职业医学, 2004, 21(6): 459-460.
- [8] 付晓玲. GGCX 在原发性膝关节骨性关节炎软骨中的表达及其意义[D]. 长沙: 中南大学, 2013.
- [9] 敏思聪, 俞银贤, 马金忠. TLR4 信号转导通路与骨关节炎[J]. 国际骨科学杂志, 2013, 34(4): 266-268.
- [10] 郭静, 张娜, 秦丽娟, 等. 膝骨关节炎患者中 IL-18、VEGF 和 NF- κ B 的表达及意义[J]. 实用医学杂志, 2013, 29(18): 3024-3026.
- [11] 韩清民, 王跃辉, 程慧, 等. 肾虚型骨性关节炎造模方法研究[J]. 新中医, 2008, 40(3): 90-92.
- [12] 沈自尹. 以药测证对肾虚证基因网络和信号转导的研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(12): 1125-1128.
- [13] 丁维俊, 王米渠, 李炜弘, 等. 肾虚证分子生物学研究前沿及热点述评[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(2): 145-147.
- [14] 杨锋, 胡成均, 章建民, 等. 温阳药、滋阴药对“阳虚”小鼠 T 细胞和 B 细胞转化功能的影响[J]. 中国实验临床免疫学杂志, 1990, (2): 31-33.

(2016-03-07 收稿 2016-07-18 修回)

《中医正骨》杂志 2015 年重点专刊目录(二)

2015 年第 9 期——小针刀技术专栏

- 1 针刀技术的特色与优势
(述评专家: 中国中医科学院骨伤科研究所 董福慧教授)
- 2 针刀疗法改善膝骨关节炎早期疼痛症状的疗效评价
- 3 针刀松解治疗指屈肌腱狭窄性腱鞘炎
- 4 针刀经皮松解联合复方当归注射液局部注射治疗肱骨外上髁炎
- 5 针刀松解联合局部封闭与口服中药治疗腰椎间盘突出症
- 6 针刀松解术治疗腰肌劳损 124 例

参考文献著录格式

- [1] 董福慧. 针刀技术的特色与优势[J]. 中医正骨, 2015, 27

(9): 1-2.

- [2] 梁朝, 蔡静怡, 闫立, 董福慧, 温建民, 余志勇, 黄大鹏. 针刀疗法改善膝骨关节炎早期疼痛症状的疗效评价[J]. 中医正骨, 2015, 27(9): 9-14.
- [3] 曹亚飞, 李亨, 余伟吉, 刘伟东. 针刀松解治疗指屈肌腱狭窄性腱鞘炎[J]. 中医正骨, 2015, 27(9): 15-17.
- [4] 伍辉国, 江克罗, 张文正, 邓同明, 王云锋. 针刀经皮松解联合复方当归注射液局部注射治疗肱骨外上髁炎[J]. 中医正骨, 2015, 27(9): 38-39.
- [5] 沈海良, 钱万锋, 周晓栋. 针刀松解联合局部封闭与口服中药治疗腰椎间盘突出症[J]. 中医正骨, 2015, 27(9): 46-47.
- [6] 吴晓刚, 潘茂才, 徐国栋, 梁军, 苏广升, 王海东. 针刀松解术治疗腰肌劳损 124 例[J]. 中医正骨, 2015, 27(9): 48-49.