

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2026.05.018

论著 · 基础

# 补肾通络方对膝骨关节炎大鼠关节微环境的影响及作用机制研究

石正誉,方锐,热米拉·艾买提,牟利民,王鹏光,邓迎杰



基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目( 82360934); 新疆维吾尔自治区自然科学基金( 2022D01C171); 新疆维吾尔自治区科技创新领军人才项目基金( 2022TSYCLJ0007); 新疆维吾尔自治区天山英才医药卫生高层次人才培养项目( TSYC202301A064); 新疆维吾尔自治区重大科技专项( 2023A03007-3)

作者单位: 830000 乌鲁木齐,新疆医科大学第四临床医学院(石正誉、热米拉·艾买提、牟利民、王鹏光); 新疆医科大学附属中医医院骨二科(方锐、邓迎杰); 434020 荆州,湖北中医药高等专科学校(石正誉)

通信作者: 邓迎杰, E-mail: 568562261@qq.com

**【摘要】** 目的 探讨补肾通络方对膝骨关节炎(KOA)模型大鼠关节微环境的影响。方法 2023年4月—2024年6月于新疆医科大学动物实验中心进行实验。将80只SD大鼠随机分为对照组、模型组、补肾通络方组(低、中、高剂量),每组16只。采用Hulth法构建KOA大鼠模型,造模4周后灌胃给药2周,对照组和模型组给予10 ml·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>生理盐水;高剂量组、中剂量组、低剂量组每日分别给予补肾通络方汤剂(4.42 ml/200 g、2.21 ml/200 g、1.105 ml/200 g)。ELISA法检测血清中白介素6(IL-6)、IL-1β和肿瘤坏死因子α(TNF-α)水平;HE染色和甲苯胺蓝染色观察膝关节滑膜和软骨组织病变情况;免疫组织化学法检测膝关节软骨组织中Ⅲ型胶原蛋白(Col III)、含有解整合素和血小板反应蛋白模序的金属蛋白酶4(ADAMTS4)和核转录因子κBp65(NF-κBp65)的蛋白表达水平。结果 与对照组比较,模型组大鼠膝关节软骨组织破坏严重,Krenn评分和Mankin评分显著升高(Z/P=5.152/<0.001, q/P=17.820/<0.001)血清中IL-6、IL-1β和TNF-α水平升高(q/P=32.300/<0.001, 32.140/<0.001, 35.190/<0.001),软骨组织中Col III的蛋白表达水平降低,ADAMTS4和NF-κBp65的蛋白表达水平升高(Z/P=4.582/<0.001、4.981/<0.001、4.115/<0.001);与模型组比较,补肾通络方各剂量组大鼠膝关节软骨组织损伤减轻,高剂量组大鼠Krenn评分和Mankin评分降低(Z/P=3.655/0.003, q/P=11.190/<0.001),中、高剂量组血清中IL-6、IL-1β和TNF-α水平降低(q/P=26.320/<0.001, 30.450/<0.001, 30.270/<0.001; 34.010/<0.001, 34.650/<0.001, 37.360/<0.001),高剂量组大鼠软骨组织中Col III蛋白表达水平升高,ADAMTS4和NF-κBp65蛋白表达降低(Z/P=3.037/0.024, 3.435/0.006、2.864/0.042)。结论 补肾通络方可以通过改善关节微环境减轻KOA大鼠症状。

**【关键词】** 膝骨关节炎; 补肾通络方; 关节微环境; 作用机制; 大鼠

**【中图分类号】** R684.3

**【文献标识码】** A

**Experimental study on the improvement of joint microenvironment and alleviation of knee osteoarthritis in SD rats by Bushentongluo Decoction** Shi Zhengyu<sup>\*</sup>, Fang Rui, Remila Aimaiti, Mou Limin, Wang Pengguang, Deng Yingjie. <sup>\*</sup> The Fourth Clinical Medical College of Xinjiang Medical University, Xinjiang, Urumqi 830000, China

Funding program: National Natural Science Foundation Regional Science Foundation Project( 82360934); Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region( 2022D01C171); Science and Technology Innovation Leading Talent Project Fund of Xinjiang Uygur Autonomous Region ( 2022TSYCLJ0007); Tian Shan Talent Medical and Health High-Level Talent Training Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region ( TSYC202301A064); Major Science and Technology Special Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region ( 2023A03007-3)

Corresponding author: Deng Yingjie, E-mail: 568562261@qq.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the effects of Bushentongluo Decoction on the joint microenvironment in a rat model of knee osteoarthritis (KOA). **Methods** Eighty Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into five groups: a normal control group, a model group, and three Bushentongluo Decoction treatment groups (low, medium, and high doses). The KOA model was induced using the Hulth method. Four weeks after modeling, the rats were administered oral gavage for 2 weeks. The normal control group and the model group received 10 ml/(kg·d) of physiological saline. The Bushentongluo

Decoction treatment groups received Bushentongluo Decoction at the following dosages: 4.42 ml/200 g (high dose), 2.21 ml/200 g (medium dose), and 1.105 ml/200 g (low dose) daily. ELISA was used to measure serum levels of interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Hematoxylin and Eosin (H&E) staining and toluidine blue staining were performed to observe histopathological changes in the synovium and cartilage of the knee joints. Immunohistochemistry was used to detect protein expression levels of type III collagen (Col III), ADAMTS4 (A Disintegrin and Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs 4), and nuclear factor kappa B p65 (NF- $\kappa$ B p65) in the knee joint cartilage tissue. **Results**

① Compared with the normal control group, the model group exhibited severe cartilage destruction, with significantly higher Krenn scores and Mankin scores ( $P < 0.01$ ). Serum levels of IL-6, IL-1 $\beta$ , and TNF- $\alpha$  were significantly elevated in the model group compared to the normal control group ( $P < 0.01$ ). The protein expression levels of Col III were significantly reduced, the protein expression levels of ADAMTS4 and NF- $\kappa$ B p65 in the cartilage tissue were significantly increased in the model group compared to the normal control group ( $P < 0.01$ ). ② Compared with the model group, the Bushentongluo Decoction treated groups showed reduced cartilage damage, lower Krenn and Mankin scores, decreased serum levels of IL-6, IL-1 $\beta$ , and TNF- $\alpha$  ( $P < 0.05$ ), increased protein expression levels of Col III and reduced protein expression levels of ADAMTS4 and NF- $\kappa$ B p65 in the cartilage tissue ( $P < 0.05$ ). The high-dose group exhibited the most significant improvements. **Conclusion** Bushentongluo Decoction can improve the joint microenvironment and alleviate the symptoms of knee osteoarthritis in rats by reducing inflammation and protecting cartilage from degradation. These findings suggest that Bushentongluo Decoction has potential as a therapeutic agent for KOA.

**【Key words】** Knee osteoarthritis; Bushentongluo decoction; Joint microenvironment; Mechanism; Rats

膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是软骨退行性改变的慢性关节疾病,老年人群的疾病负担最高,女性高于男性<sup>[1-2]</sup>。KOA的致病因素包括年龄、肥胖、炎症反应、创伤和遗传因素,然而发病机制尚不清楚<sup>[3]</sup>。KOA的特征性病理表现包括滑膜炎性反应、软骨退化、软骨下骨改变、关节边缘骨赘,而软骨退变在KOA的发生中起着至关重要的作用<sup>[4]</sup>。严重KOA患者甚至可能永久残疾,使这些患者的身心健康产生负面影响,对卫生系统和社会经济造成负担<sup>[3]</sup>。而中医药防治KOA疗效确切,患者容易接受,具有一定优势<sup>[5]</sup>。本研究基于中医“补肾调血”理论,结合关节微环境探讨补肾通络方治疗KOA的可能机制,为临床应用补肾通络方治疗KOA提供基础理论依据,报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物与分组: 雄性SD大鼠80只(动物合格证编号20111125008),清洁级,体质量200~400 g,采用随机数字表法将80只SD大鼠分为对照组、模型组和补肾通络方低、中、高剂量组,每组16只,对照组不进行任何手术,模型组与补肾通络方组建立KOA模型。实验方案已通过新疆医科大学实验动物伦理委员会批准(IACUC-JT-20230321-68)。

1.1.2 主要试剂与仪器: 补肾通络方由新疆医科大学附属中医医院药剂科制备(熟地、杜仲、当归各12 g,山萸肉、怀牛膝、桑寄生、秦艽、独活各9 g,防风10 g,细辛3 g,地龙、甘草各6 g); 大鼠肿瘤坏死因子- $\alpha$

(TNF- $\alpha$ )酶联免疫吸附测定试剂盒(货号JL13202)、大鼠白介素1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )酶联免疫吸附测定试剂盒(货号JL20884)、大鼠IL-6酶联免疫吸附测定试剂盒(货号JL20896),以上均购自江莱生物公司;一抗含有解整合素和血小板反应蛋白模序的金属蛋白酶4(ADAMTS4)(货号GB11807)、一抗III型胶原蛋白(Collagen3, Col III)(货号GB111629)、一抗核转录因子 $\kappa$ Bp65(NF- $\kappa$ Bp65)(货号GB11997)、二抗HRP标记的山羊抗兔IgG(货号GB23303),以上均购自武汉赛维尔生物科技有限公司;苏木素返蓝液(货号G1040)等;恒温摇床(货号ZHWY-200B,上海医用恒温设备厂);病理切片机(货号RM2016,上海徠卡仪器有限公司);组织摊片机(货号KD-P,浙江省金华市科迪仪器设备有限公司);组化笔(货号G6100,武汉赛维尔生物科技有限公司)等。

1.2 实验方法 2023年4月—2024年6月于新疆医科大学动物实验中心进行实验。

1.2.1 膝骨关节炎动物模型的构建: 腹腔注射3%戊巴比妥钠0.1~0.2 ml/100 g麻醉后固定于手术台上,备皮。在膝关节髌骨内侧剪开皮肤及筋膜,止血钳钝性分离肌肉,找到内侧副韧带并切断,横向剥离关节囊暴露膝关节,外展屈曲膝关节,在髌韧带内侧和胫骨平台上方找到内侧半月板,显微剪缓慢分离半月板直至完整夹出,显微剪继续平行于胫骨平台向膝关节中后处探查剪断前后交叉韧带<sup>[6]</sup>,抽屉试验阳性提示成功剪断。恢复膝关节正常位置,生理盐水冲洗,缝合关节囊、肌肉筋膜和皮肤,切口处1%碘伏消毒后涂抹红霉

素软膏,放回笼饲养。

1.2.2 干预方法:造模 4 周后灌胃给药。对照组和模型组给予 10 ml · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>生理盐水灌胃;给予高剂量组每日 4.42 ml/200 g、中剂量组每日 2.21 ml/200 g、低剂量组每日 1.105 ml/200 g 补肾通络方汤剂灌胃。各组均灌胃 2 周。

### 1.3 检测指标与方法

1.3.1 ELISA 检测血清中 IL-6、IL-1β 和 TNF-α 水平:给药结束后,大鼠腹腔内注射 3% 戊巴比妥钠麻醉后,收集外周血。外周血在 4 h 内离心分装,采用 ELISA 法检测血清炎症因子(IL-6、IL-1β、TNF-α)水平。

1.3.2 HE 染色观察滑膜和软骨组织病变情况:给药结束后,大鼠腹腔内注射 3% 戊巴比妥钠麻醉后,收集膝关节标本。膝关节标本先在组织固定液中浸泡 24~48 h,然后取出冲洗再浸泡在 EDTA 脱钙液中 1 个月,7~10 d 换一次脱钙液,直至组织软化,再进行脱水、透明、浸蜡、包埋、切片。石蜡切片经 HE 染色后观察滑膜和软骨组织病理学变化,并进行 Krenn 滑膜炎评分<sup>[7]</sup>和 Mankin 软骨组织评分。Krenn 评分:滑膜内层细胞层扩大(0~3 分);固有细胞的密度(0~3 分);炎症浸润(0~3 分)。Mankin 评分:软骨结构(0~6 分);软骨细胞(0~3 分);软骨基质染色(0~4 分);潮线完整性(0~1 分)。

1.3.3 甲苯胺蓝染色观察关节软骨病变情况:上述处理后的膝关节标本,石蜡切片脱蜡至水,蒸馏水洗 2 min,在甲苯胺蓝染色液浸染 30 min,水洗,95%乙醇分化,95%乙醇、无水乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封固,显微镜下观察并拍照。

1.3.4 免疫组织化学法检测膝关节软骨组织中 Col III、ADAMTS4 和 NF-κBp65 的蛋白表达水平:上述处理后的膝关节标本,石蜡切片脱蜡至水,抗原修复,阻断内源性过氧化物酶,血清封闭,加一抗、二抗,DAB 显色,复染细胞核,脱水封片。镜检:置于白光显微镜下进行结果判读。苏木素染细胞核为蓝色,DAB 显出的阳性表达为棕黄色。使用 Image J 分析软件测量各指标蛋白水平。

1.4 统计学方法 采用 GraphPad Prism 9.1.0 软件进行统计学分析。符合独立性、正态性、方差齐性的多独立样本的计量资料,用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),进一步两两比较采用 Turkey 检验;不符合正态性或方差齐性的计量资料,用中位数和四分位数  $M(Q_1, Q_3)$  表示,采用秩和检验(Kruskal-Wallis H 检验),进一步两两比较采用 Dunn's 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠血清炎症因子水平比较 与对照组比较 模型组大鼠血清 IL-6、IL-1β、TNF-α 含量明显升高( $q/P = 32.300 / < 0.001, 32.140 / < 0.001, 35.190 / < 0.001$ );与模型组比较 补肾通络方各剂量组大鼠血清 IL-6、IL-1β、TNF-α 含量明显降低,以中、高剂量组最为显著( $q/P = 26.320 / < 0.001, 30.450 / < 0.001, 30.270 / < 0.001; 34.010 / < 0.001, 34.650 / < 0.001, 37.360 / < 0.001$ ),见表 1。

表 1 各组大鼠血清 IL-6、IL-1β 及 TNF-α 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ , μg/L)

Tab.1 Comparison of serum IL-6, IL-1β and TNF-α levels in each group of rats

组别	IL-6	IL-1β	TNF-α
对照组	17.23±3.60	13.82±2.07	12.55±3.27
模型组	179.50±12.88 <sup>a</sup>	183.30±12.36 <sup>a</sup>	190.20±10.39 <sup>a</sup>
补肾通络方低剂量组	150.40±33.96 <sup>b</sup>	155.10±33.84 <sup>b</sup>	158.10±35.11 <sup>b</sup>
补肾通络方中剂量组	59.74±9.64 <sup>b</sup>	37.88±17.16 <sup>b</sup>	51.77±9.13 <sup>b</sup>
补肾通络方高剂量组	24.73±7.55 <sup>b</sup>	17.81±5.06 <sup>b</sup>	19.35±6.85 <sup>b</sup>
F 值	255.869	281.709	312.198
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

2.2 各组大鼠滑膜和软骨组织病变情况比较 对照组大鼠滑膜组织和细胞形态正常,软骨结构清楚完整,软骨细胞均匀分布,未见明显潮线;模型组大鼠可见内衬层细胞显著增生,大量炎症细胞浸润,软骨结构不完整,软骨缺损严重甚至消失,软骨细胞坏死,大量纤维组织增生;补肾通络方各剂量组可见滑膜内衬层细胞层数减少,炎症细胞浸润减轻,部分软骨面缺损和消失,软骨细胞数量减少,纤维组织增生,可见较多胶原纤维和纤维细胞,其中高剂量组大鼠软骨表面较光滑,软骨细胞大小、分布均匀,排列较规则,软骨层结构基本完整,见图 1。与对照组比较,模型组大鼠 Krenn 评分和 Mankin 评分明显升高( $Z/P = 5.152 / < 0.001, q/P = 17.820 / < 0.001$ );与模型组比较,高剂量组大鼠 Krenn 评分和 Mankin 评分明显降低( $Z/P = 3.655 / 0.003, q/P = 11.190 / < 0.001$ ),见表 2。

2.3 各组大鼠甲苯胺蓝染色结果 对照组软骨细胞的细胞核呈蓝紫色,软骨基质中的蛋白多糖染色均匀,呈蓝色或蓝紫色,见完整潮线;模型组软骨细胞数量较少,蛋白多糖染色较浅,潮线不完整;相较于模型组,补肾通络方各剂量组软骨细胞数量增多,软骨基质染色较深,但略浅于对照组,见图 2。

表 2 各组大鼠 Krenn 评分和 Mankin 评分比较

Tab.2 Comparison of Krenn scores and Mankin scores among different groups of rats

组别	Krenn 评分 [M(Q <sub>1</sub> , Q <sub>3</sub> )]	Mankin 评分 (x±s)
对照组	0.00( 0.00 ,1.00)	2.00±1.41
模型组	8.00( 7.50 ,9.00) <sup>a</sup>	9.09±1.30 <sup>a</sup>
补肾通络方低剂量组	8.00( 7.00 ,8.50)	7.91±1.14 <sup>b</sup>
补肾通络方中剂量组	7.00( 6.00 ,7.50)	6.46±1.37 <sup>b</sup>
补肾通络方高剂量组	3.00( 3.00 ,4.50) <sup>b</sup>	4.64±1.36 <sup>b</sup>
H/F 值	37.042	49.358
P 值	<0.001	<0.001

注: 与对照组比较 <sup>a</sup>P<0.01; 与模型组比较 <sup>b</sup>P<0.05。

2.4 各组大鼠软骨组织 Col III、ADAMTS4 和 NF-κBp65 蛋白表达比较 与对照组比较,模型组软骨中 Col III 表达降低,ADAMTS4 和 NF-κBp65 表达升高

( Z/P=4.582/<0.001、4.981/<0.001、4.115/<0.001); 与模型组比较,补肾通络方各剂组 Col III 表达升高,ADAMTS4 和 NF-κBp65 表达降低,高剂量组变化显著( Z/P= 3.037/0.024、3.435/0.006、2.864/0.042), 见表 3、图 3。

3 讨论

KOA 中医称“膝痹”。《素问·阴阳应象大论篇》曰“肝生筋”,肝血充足则筋脉顺畅,关节活动自如。《素问·六节藏象论篇》曰“肾者,主蛰,封藏之本,精之均也。”肾藏精主骨,主纳气,调节全身水液代谢,关节软骨依靠关节液提供营养,若肾之阳气虚弱,气化作用失常,则无法调节人体的水液代谢,导致关节液不足,关节软骨微环境不能交换营养物质,致使关节软骨退化、消失,从而导致 KOA 形成。

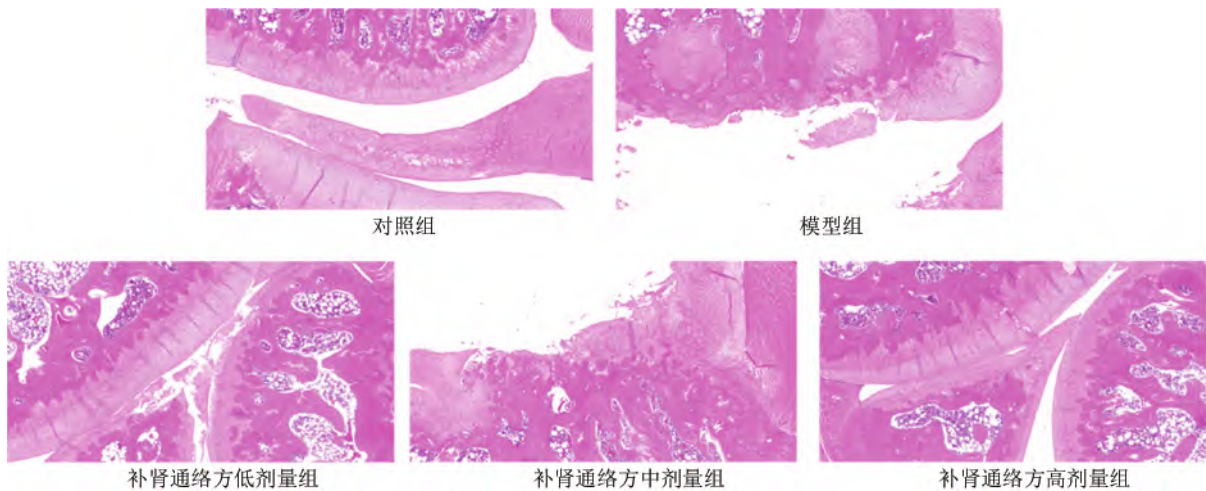


图 1 各组大鼠软骨组织形态( HE 染色 ×200)

Fig.1 Comparison of cartilage tissue morphology among different groups of rats( HE staining)

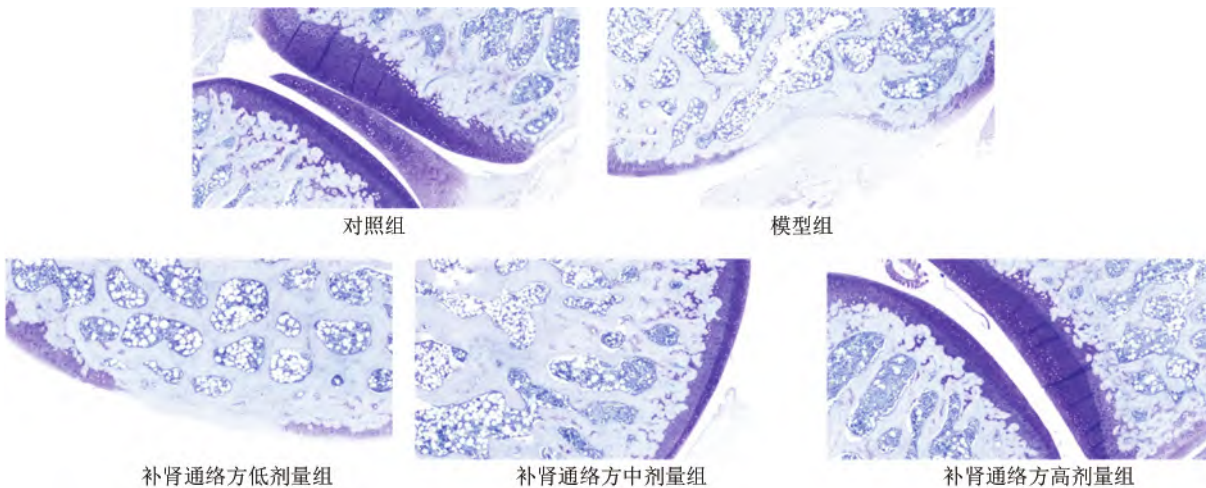


图 2 各组大鼠软骨组织形态( 甲苯胺蓝染色 ×200)

Fig.2 Comparison of cartilage tissue morphology among different groups of rats( toluidine blue stain)

表 3 各组大鼠 Col III、ADAMTS4 和 NF-κBp65 阳性表达比较 [M(Q<sub>1</sub>, Q<sub>3</sub>)]

Tab.3 Comparison of the positive expression of Col III, ADAMTS4 and NF-κBp65 in each group of rats

组别	Col III	ADAMTS4	NF-κBp65
对照组	1.00( 1.00 ,1.00)	1.00( 1.00 ,1.00)	1.00( 1.00 ,1.00)
模型组	0.58( 0.54 ,0.70) <sup>a</sup>	1.46( 1.36 ,1.48) <sup>a</sup>	1.36( 1.31 ,1.38) <sup>a</sup>
补肾通络方低剂量组	0.67( 0.59 ,0.70)	1.40( 1.35 ,1.44)	1.33( 1.32 ,1.38)
补肾通络方中剂量组	0.75( 0.70 ,0.89)	1.23( 1.14 ,1.30)	1.23( 1.20 ,1.30)
补肾通络方高剂量组	0.96( 0.87 ,0.98) <sup>b</sup>	1.07( 1.04 ,1.13) <sup>b</sup>	1.12( 1.03 ,1.15) <sup>b</sup>
H 值	28.161	34.326	25.693
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与对照组比较,<sup>a</sup>P<0.01; 与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.05。

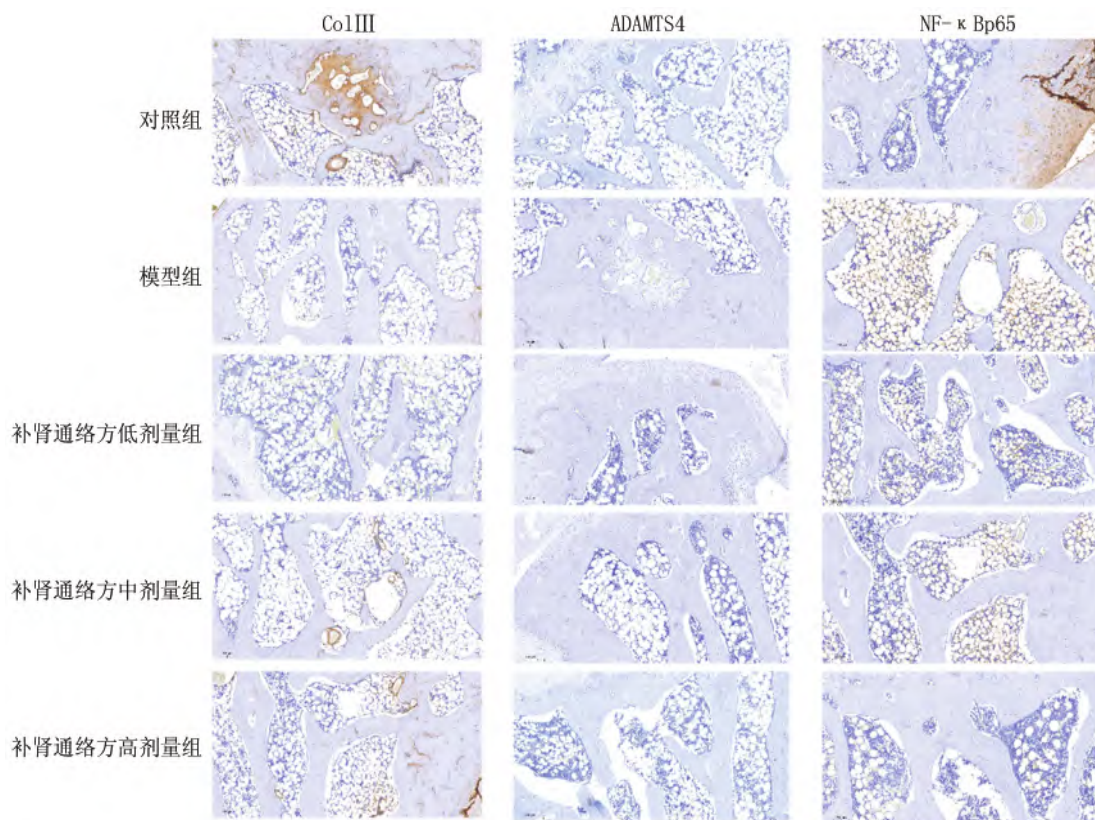


图 3 各组大鼠 Col III、ADAMTS4 和 NF-κBp65 阳性表达(免疫组化染色, ×200)

Fig.3 Comparison of the positive expression of Col III, ADAMTS4 and NF-κBp65 in each group of rats(immunohistochemical staining)

补肾通络方是全国名老中医王继先在多年临床实践中总结出的有效方剂,具有补益肝肾、调和气血、疏通经络、祛风除湿之功。方中君药熟地、山萸肉,补肝肾、强筋骨、通脉祛痹;臣药杜仲、怀牛膝、桑寄生,协助君药发挥补肝肾、活血化瘀、通络祛痹的作用;佐药防风、秦艽、独活、细辛,温通经络;佐药当归、地龙,活血止痛;使药甘草,调和诸药。诸药合用,治疗痹症日久、肝肾两亏、气血不足之证。前期研究中补肾通络方组治疗 KOA 的有效率显著高于对照组,且补肾通络方能明显下调血清及关节液中基质金属蛋白酶-1、3 和

IL-1β的水平<sup>[8]</sup>。因此认为调节关节微环境对延缓 KOA 病理进程很重要,而补肾通络方则可能通过抑制 NF-κB 信号通路影响炎症介质的表达,改善关节微环境最终起到延缓关节软骨退变的作用。

生物信号传导混乱导致关节软骨微环境的物质运转失调、平衡破坏,进一步加速了 KOA 的形成<sup>[9]</sup>。关节微环境包括关节内细胞、细胞外基质(extra cellular matrix, ECM)、炎症介质和生长因子等,共同导致关节变化。TNF-α、IL-1β 和 IL-6 等炎症细胞因子在 KOA 患者关节组织中高表达,其能够刺激炎症反应和加速

软骨基质降解。核转录因子  $\kappa$ B (nuclear factor Kappa B, NF- $\kappa$ B) 是一种二聚体蛋白,存在于细胞质中,NF- $\kappa$ B 被激活、磷酸化并易位至细胞核,调节免疫和炎症反应相关基因的转录和表达<sup>[10]</sup>。关节软骨正常形态的维持主要依靠软骨细胞合成和分解代谢之间的平衡,Col III 也可以维持软骨组织的稳定<sup>[11-12]</sup>,但是软骨细胞中主要的蛋白聚糖酶——ADAMTS4 可以分解蛋白聚糖,促进软骨的减少和退化<sup>[13]</sup>,软骨组织退变程度与其表达水平呈正相关。只要软骨细胞合成和分解代谢失衡,软骨就会降解,继而导致骨关节炎发生,因此维持软骨细胞代谢平衡对于改善骨关节炎至关重要<sup>[14]</sup>。所以胶原蛋白表达升高,ADAMTS 蛋白表达降低,蛋白聚糖异常降解减弱,软骨细胞降解代谢降低,改善了软骨退化<sup>[15]</sup>。

KOA 大鼠经补肾活血中药干预后,关节液中促炎因子的表达水平下降,生长因子表达水平升高,可以缓解 KOA 关节软骨微环境炎症反应并延缓关节破坏<sup>[16]</sup>。“补肾”法治疗 KOA 不仅可以调节关节微环境,促进软骨再生、修复,还可以改善机体代谢,减少软骨损伤<sup>[17]</sup>。正常的营养补充可以维持软骨形态,保证正常功能活动,但是关节腔和软骨基质的营养物质交换需要充足的、通畅流动的关节液、血液。而 KOA 患者大多表现为骨内高压和骨内静脉瘀滞<sup>[18]</sup>,营养物质传递受阻导致软骨缺血缺氧,补肾中药无法发挥作用。在“补肾”的基础上辅以“活血”,畅通了传递通道,有利于更好地发挥补肾作用,可以明显改善 KOA 患者的临床症状,提高生活质量<sup>[19-21]</sup>。“补肾”调动原材料干细胞参与软骨修复,“活血”保证原材料运输通畅,抑制炎症反应,降低对干细胞分化修复的影响,两者相辅相成,调节了微循环和免疫功能,改善了软骨微环境<sup>[22-24]</sup>。

本研究结果显示,与模型组比较,补肾通络方组膝关节软骨组织损伤较轻,软骨组织 Col III 表达水平升高,血清炎症因子 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平和软骨组织 ADAMTS4、NF- $\kappa$ Bp65 表达水平均明显降低,且高剂量组显著降低。所以补肾通络方可能通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路来减轻炎症反应和软骨破坏,从而改善膝关节微环境达到治疗 KOA 的目的。然而,补肾通络方改善关节微环境来延缓 KOA 发展的具体分子生物学机制需要进一步研究。对于关节微环境的研究有助于更好地理解 KOA 的发病机制,为疾病的诊断和治疗提供重要的理论基础。未来,针对关节微环境的干预治疗或许能够帮助改善 KOA 患者的症状,并减缓疾病的进展。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

石正誉、牟利民:参与动物实验和数据分析、撰写文章;方锐、邓迎杰:提供研究思路、技术指导、研究经费支持、论文修改审核;热米拉·艾买提、王鹏光:参与动物实验研究并采集标本参考文献

- [1] Oo WM, Liu X, Hunter DJ. Pharmacodynamics, efficacy, safety and administration of intra-articular therapies for knee osteoarthritis [J]. Expert Opinion On Drug Metabolism & Toxicology, 2019, 15(12): 1021-1032. DOI: 10.1080/17425255.2019.1691997.
- [2] Hanna FS, Teichtahl AJ, Wluka AE, et al. Women have increased rates of cartilage loss and progression of cartilage defects at the knee than men: A gender study of adults without clinical knee osteoarthritis [J]. Menopause, 2009, 16(4): 666-670. DOI: 10.1097/gme.0b013e318198e30e.
- [3] Ge W, Zhang X, Wang Q, et al. Dicoumarol attenuates NLRP3 inflammasome activation to inhibit inflammation and fibrosis in knee osteoarthritis [J]. Molecular Medicine Reports, 2024, 29(6): 100. DOI: 10.3892/mmr.2024.13224.
- [4] Chen W, Liu W, Jiang T, et al. Tongbi Huoluo Decoction alleviates cartilage degeneration in knee osteoarthritis by inhibiting degradation of extracellular matrix [J]. Chinese Medicine, 2023, 18(1): 91. DOI: 10.1186/s13020-023-00802-z.
- [5] 张锐, 马继海, 柴喜平, 等. 独活寄生汤对膝关节炎模型大鼠 NF- $\kappa$ B 通路关键分子表达的影响 [J]. 西部中医药, 2023, 36(8): 15-19. DOI: 10.12174/j.issn.2096-9600.2023.08.04.
- [6] 杨梦琪, 张向东, 寇赵浙, 等. 膝关节炎动物建模研究进展 [J]. 现代疾病预防控制, 2023, 34(3): 161-165. DOI: 10.13515/j.cnki.hnjpm.1006-8414.2023.03.001.
- [7] 杨威. 基于 NLRP3 炎症小体探讨补肾益气方对肾虚型 KOA 豚鼠滑膜炎的干预研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2022.
- [8] 方锐, 孟庆才, 邓迎杰, 等. 膝关节炎患者血清和关节液中基质金属蛋白酶 1、3、基质金属蛋白酶抑制剂 1 及白细胞介素 1 $\beta$  含量与补肾通络方的干预 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(28): 5581-5585. DOI: 10.3321/j.issn:1673-8225.2008.28.045.
- [9] 宁子柳, 刘皓辰, 吴官保. 基于“肾主骨, 为作强之官”论述膝关节炎关节软骨微环境重塑 [J]. 湖南中医杂志, 2023, 39(3): 107-111. DOI: 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2023.03.028.
- [10] Wang K, Zhang X, Li X, et al. Non-weight-bearing exercise attenuates papain-induced knee osteoarthritis in rats via the TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. Journal of Orthopaedic Surgery and Research, 2023, 18(1): 695. DOI: 10.1186/s13018-023-04201-w.
- [11] Martínez-Moreno D, Jiménez G, Gálvez-Martín P, et al. Cartilage biomechanics: A key factor for osteoarthritis regenerative medicine [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2019, 1865(6): 1067-1075. DOI: 10.1016/j.bbadis.2019.03.011.
- [12] Xu R, Wu J, Zheng L, et al. Undenatured type II collagen and its role in improving osteoarthritis [J]. Ageing Res Rev, 2023, 91: 102080. DOI: 10.1016/j.arr.2023.102080.

(下转 617 页)

3969/j.issn.1006-2157.2024.01.008.

[9] 任萌萌,张效霞. 基于“五脏共主”的中医水液代谢系统的建立[J]. 中国中医基础医学杂志, 2024, 30(10): 1638-1644. DOI: 10.19945/j.cnki.issn.1006-3250.20231130.005.

[10] 张星,马月香. 基于“肺主皮毛”探析汗与肺的相关性[J]. 山东中医药大学学报, 2021, 45(3): 331-335. DOI: 10.16294/j.cnki.1007-659x.2021.03.010.

[11] 薛公佑. 中医基础理论的核心是关系哲学[J]. 医学与哲学, 2021, 42(3): 21-23, 64. DOI: 10.12014/j.issn.1002-0772.2021.03.06.

[12] 王琦. 基于中国哲学与现代科学视域的中医学气本体论[J]. 北京中医药大学学报, 2022, 45(1): 1-10. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2157.2022.01.001.

[13] 章文春. 中医气论证构探析[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(10): 5580-5584.

[14] 江涛. “肺主气”的文献研究及肺亦为后天之本论[D]. 济南: 山东中医药大学, 2006.

[15] 吴以岭,魏聪,赵珊珊. 气与气络学说探讨[J]. 中医杂志, 2017, 58(21): 1801-1807. DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2017.21.001.

[16] 刘少灿,李鲁钦,张德英. 论“肝主宣发”[J]. 中国中医基础医学杂志, 2015, 21(5): 600-601. DOI: 10.19945/j.cnki.issn.1006-3250.2015.05.042.

[17] 郑齐,杜松,于峥,等. “肝生于左 肺藏于右”内涵探析[J]. 中国中医基础医学杂志, 2023, 29(5): 695-698. DOI: 10.19945/j.cnki.issn.1006-3250.2023.05.007.

[18] 陈春妹,宋庆桥,张并璇,等. “肝生于左 肺藏于右”理论考释[J]. 北京中医药大学学报, 2025, 48(7): 914-918. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2157.2025.07.005.

[19] 马淑然,李澎涛,郭霞珍,等. 关于中医“肺应秋”本质内涵的理论探讨[J]. 中医杂志, 2006, 47(9): 643-645. DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2006.09.001.

[20] 何伟. 论“肺合大肠,大肠者 皮其应”的理论内涵及生物学机制[J]. 北京中医药大学学报, 2023, 46(10): 1350-1356. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2157.2023.10.004.

[21] 王文远. 古代中国防疫思想与方法及其现代应用研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2011.

[22] 李红蓉,吴以岭. 络病研究的传承与创新[J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(12): 1075-1085. DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2022.1075.

[23] 吴以岭. 络病理论体系构建及其学科价值[J]. 前沿科学, 2007(2): 40-46. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8128.2007.02.006.

[24] 李红蓉,高美兰,张洁晗,等. 基于络病理论从气血相关角度论治心律失常[J]. 南京中医药大学学报, 2024, 40(10): 1004-1012. DOI: 10.14148/j.issn.1672-0482.2024.1004.

[25] 杨中英,臧娜,刘恩梅. 神经-免疫调控在呼吸道疾病中的研究进展[J]. 生理学报, 2022, 74(3): 434-442. DOI: 10.13294/j.aps.2022.0038.

[26] Pilarski JQ, Leiter JC, Fregosi RF. Muscles of breathing: Development, function, and patterns of activation [J]. Compr Physiol, 2019, 9(3): 1025-1080. DOI: 10.1002/cphy.c180008.

[27] Guluzade NA, Nishidera K, Faricier R, et al. Contributions of the peripheral respiratory chemoreceptors to hyperpnea at intensities below the respiratory compensation point [J]. J Appl Physiol (1985), 2025, 138(6): 1372-1384. DOI: 10.1152/jappphysiol.00103.2025.

[28] 张积思,徐江雁. “肺朝百脉”理论研究评析[J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(11): 5367-5369.

[29] Pettersson J, Glenn RW. Gas exchange in the lung [J]. Semin Respir Crit Care Med, 2023, 44(5): 555-568. DOI: 10.1055/s-0043-1770060.

[30] 梁元钰,袁佳,吕晓东,等. 肺络构效与肺气血屏障论[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(5): 2330-2334.

(收稿日期: 2026-02-02)

(上接 612 页)

[13] Li T, Peng J, Li Q, et al. The mechanism and role of ADAMTS protein family in osteoarthritis [J]. Biomolecules, 2022, 12(7): 959. DOI: 10.3390/biom12070959.

[14] Yao M, Zhang C, Ni L, et al. Cepharanthine ameliorates chondrocyte inflammation and osteoarthritis via regulating the MAPK/NF- $\kappa$ B autophagy pathway [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 854239. DOI: 10.3389/fphar.2022.854239.

[15] 徐田杰,樊佳欣,郭小玲,等. 二甲双胍抑制 PI3K/AKT/mTOR 信号通路保护骨关节炎模型大鼠关节软骨[J]. 中国组织工程研究, 2025, 29(5): 1003-1012. DOI: 10.12307/2025.282.

[16] 谢辉. 补肾活血中药对膝关节炎症免疫微环境的调控作用及其机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2017.

[17] 叶倩云,朱晓峰,杨丽,等. 基于“肾-精-髓-骨”理论体系探讨“补肾”在治疗膝关节炎中的作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2021, 41(12): 1502-1506. DOI: 10.7661/j.cjim.20211011.380.

[18] 卢文亚,张应生,李楠. 中药复方对膝关节炎软骨退化作用机制的研究进展[J]. 江西中医药, 2020, 51(7): 78-80.

[19] 徐斌,徐远坤,邹海峰,等. 口服补肾活血方药联合关节腔注射玻璃酸钠治疗膝骨关节炎的 Meta 分析[J]. 中医正骨, 2021, 33(2): 38-43. DOI: 10.3969/j.issn.1001-6015.2021.02.007.

[20] 李朋,李钊,罗天,等. 补肾活血协定方治疗膝骨性关节炎肾虚血瘀证的疗效及机制[J]. 辽宁中医杂志, 2021, 48(7): 96-100. DOI: 10.13192/j.issn.1000-1719.2021.07.027.

[21] 孙仁光,梁彬彬. 补肾活血方对老年膝骨关节炎的疗效及对细胞因子的影响[J]. 中医临床研究, 2020, 12(26): 97-99.

[22] 张金生,张宝霞. “肾精”与“干细胞”的同一性认识[J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(2): 326-328. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2018.02.017.

[23] 李斌,郭姝娜,张继胜. 补肾活血方对膝骨关节炎大鼠 MMP-3、MMP-13 及 OPG/RANKL 轴的影响[J]. 中医研究, 2020, 33(3): 73-76. DOI: 10.3969/j.issn.1001-6910.2019.03.29.

[24] 张宝霞,张金生,惠小珊,等. 补肾化瘀生新方改善缺血缺氧性微环境延缓骨髓间充质干细胞衰老的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(16): 87-92. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20201604.

(收稿日期: 2025-01-23)