

- [21] Porras D, Nistal E, Martínez-Flórez S, et al. Protective effect of quercetin on high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease in mice is mediated by modulating intestinal microbiota imbalance and related gut-liver axis activation[J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 102: 188-202.
- [22] Tett A, Pasolli E, Masetti G, et al. *Prevotella* diversity, niches and interactions with the human host[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2021, 19(9): 585-599.
- [23] Xie L M, Chen T, Qi X, et al. Exopolysaccharides from genistein-stimulated *Monascus purpureus* ameliorate cyclophosphamide-induced intestinal injury via PI3K/AKT-MAPKs/NF-κB pathways and regulation of gut microbiota[J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71(35): 12986-13002.
- [24] Zhang T, Ji X H, Lu G C, et al. The potential of *Akkermansia muciniphila* in inflammatory bowel disease[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2021, 105(14-15): 5785-5794.
- [25] Macchione I G, Lopetuso L R, Ianiro G, et al. *Akkermansia muciniphila*: key player in metabolic and gastrointestinal disorders[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(18): 8075-8083.
- [26] Yang J P, Li Y N, Wen Z Q, et al. *Oscillospira*—a candidate for the next-generation probiotics[J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1987783.
- [27] Zhang X L, Chen L, Yang J, et al. Vitamin D alleviates non-alcoholic fatty liver disease via restoring gut microbiota and metabolism[J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1117644.

基于蛋白质组学技术探讨逐瘀通络颗粒对膝骨关节炎大鼠的作用

赵慧, 曹轶君, 刘晓琰*

(上海交通大学医学院附属第九人民医院黄浦分院, 上海 200011)

摘要: 目的 探讨逐瘀通络颗粒对膝骨关节炎 (KOA) 大鼠的作用。方法 将大鼠随机分为空白组、模型组、逐瘀通络颗粒组低、中、高剂量组 (90、180、360 mg/kg), 每组 10 只。除空白组外, 其余各组大鼠采用 4% 木瓜蛋白酶溶液构建膝骨关节炎模型后, 灌胃给予相应剂量药物, 每天 1 次, 持续 36 d。观察大鼠一般情况及体质量, HE 染色法观察膝骨关节软骨组织病理形态, ELISA 法检测血清炎症因子 (TNF-α、IFN-γ、IL-1β、IL-17) 水平, 采用 UPLC-Orbitrap Fusion Lumos Tribrid/MS 技术进行蛋白质组学分析, 筛选差异蛋白质及其相关蛋白信号通路, Western blot 法检测差异蛋白表达。结果 与模型组比较, 各给药组大鼠体质量增长速度加快; 膝关节软骨组织滑膜细胞增生、炎性细胞浸润、关节面破坏情况改善, 纤维结缔组织减少; 逐瘀通络颗粒中、高剂量组血清炎症因子水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 逐瘀通络颗粒低剂量组 IFN-γ 水平降低 ($P<0.05$), TNF-α、IL-1β、IL-17 水平无明显变化 ($P>0.05$); 瘀通络颗粒高剂量组 TLR2、TLR4、MMP1、MMP3、P-NFκB、ADAMTS5、P-p38、P-PI3K 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。共筛选出 63 个差异蛋白质, 模型组有 10 个上调蛋白, 53 个下调蛋白, 各给药组 63 个差异蛋白均有所回调。结论 逐瘀通络颗粒通过调节 TLR2/MMPs/p38/NF-κB、TLR4-PI3K/Akt 信号通路缓解 KOA 大鼠炎症反应, 从而发挥其抗膝骨关节炎作用。

关键词: 逐瘀通络颗粒; 膝骨关节炎; 蛋白质组学; TLR2/MMPs/p38/NF-κB 信号通路; TLR4-PI3K/Akt 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)05-1714-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.05.048

膝骨关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 是一种严重影响生活质量的慢性退行性疾病^[1], 常见临床表现为膝关节疼痛、肿胀等^[2-3], 主要致病因素有年龄、体重、慢性基础疾病等^[4], 我国的老年患病率为 20%~46%^[5-6]。目前临床常见的 KOA 治疗方法分为手术和药物治疗, 二者均无法有效阻止关节结构退化和关节软骨细胞凋亡^[7]。由于 KOA 发病机制复杂, 因此寻求有效、安全、经济、方便的治疗方法成为临床关注点之一。

KOA 是中医治疗优势病种之一, 属于中医中的“痹症”“骨痿”等范畴, 《黄帝内经》中亦记载:“病在骨者, 骨重不可举, ……名曰骨痹。”历代医家认为其核心病机属于“本虚标实”“本痿标痹”^[8-9], 并以祛痰化瘀、补肾助阳等为治法。

石氏伤科作为国家级非物质文化遗产, 对 KOA 治法主张以祛湿化瘀、通络散结为主^[9], 与传统治法不谋而合。逐瘀通络颗粒原方由国医大师石仰山根据石氏经典方剂牛

收稿日期: 2024-11-26

基金项目: 上海市黄浦区卫生健康委员会科研项目 (HLM202210)

作者简介: 赵慧 (1971—), 女, 副主任药师, 研究方向中药药理学。Tel: 13817528060, E-mail: zhh28060@163.com

*通信作者: 刘晓琰 (1971—), 女, 博士, 主任药师, 研究方向临床药学。Tel: 13391074433, E-mail: xiaoyan5156@163..com

蒡子汤加减拟定,以期达到痰湿阻滞渐消、气血失和日调^[10]之效。前期临床研究已证实,逐痰通络加减方对KOA患者临床疗效明显,不良反应少,安全性较高^[11],但目前对于该方治疗KOA的作用机制研究相对薄弱。

蛋白质组学的优势在于疾病的发生或药物应激都会直接影响蛋白质表达,因此本研究基于蛋白组学探讨逐痰通络颗粒发挥治疗作用的信号通路,并通过药理学手段进行验证,以期阐明逐痰通络颗粒治疗KOA的作用机制,并为临床治疗提供新思路。

1 材料

1.1 动物 8周龄雄性SPF级SD大鼠50只,体质量约200 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司[实验动物生产许可证号SCXK(沪)2022-0004],饲养于上海中医药大学实验动物中心,每笼5只,室内温度20~25 ℃,相对湿度45%~70%,12 h/12 h明暗交替,自由摄食饮水,适应性喂养1周。实验经上海中医药大学实验动物中心伦理委员会批准(伦理号PZSHUTCM2303140011)。

1.2 药物与试剂 逐痰通络颗粒由上海交通大学附属第九人民医院黄浦分院提供,批号202210010202,经上海市食品药品监督管理局鉴定符合2015年版《中国药典》四部通则(0104颗粒剂)及薄层色谱法(通则0502)项下规定。木瓜蛋白酶(德国Sigma Aldrich公司,批号76216);IL-1β、TNF-α、IFN-γ、IL-17 ELISA试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司,批号H002-1-2、H052-1-2、H025-1-2、H014-1);p38、p-p38、PI3K、p-PI3K、NF-κB、基质金属蛋白酶(MMP)-1、MMP-3、解聚蛋白样金属蛋白酶-5(ADAMTS-5)、Toll样受体(TLR)2、TLR4抗体(武汉爱博泰克生物科技有限公司,批号A14401、AP0526、A0265、AP1487、AP1355、A22080、A11418、A23125、A19125、A5258);TBS缓冲液、BCA蛋白定量检测试剂盒、SDS-PAGE凝胶制备试剂盒(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号G0001、G2026、G2003);10% SDS、PBS磷酸盐缓冲液、1.0 mol/L Tris-HCl电泳缓冲液[基尔顿生物科技(上海)有限公司,批号BYL40944、BYL40657、BYL40910、BYL40908];Tris-HCl缓冲液(上海碧云天生物技术有限公司,批号93362);蛋白酶抑制剂、二硫苏糖醇、碘乙酰胺、三乙酰氧基硼氢化钠、定量比色肽测定试剂盒(美国赛默飞世尔科技公司,批号VG300794、42578723、GR3334439-2、WA316343、YA366423);胰酶[质谱纯,普洛麦格(北京)生物技术有限公司,批号0000458463];Sep-Pak C₁₈脱盐柱(美国Waters公司,批号WAT054955)。乙腈(质谱纯,德国Merck公司,批号K3021728);甲酸(色谱纯)、三氟乙酸(TFA,质谱纯)(上海安谱实验科技股份有限公司,批号84630200、4-018443-0250);丙酮(色谱纯,国药集团化学试剂有限公司,批号10000418);水为超纯水,其他试剂均为分析纯。

1.3 仪器 光学显微镜(日本奥林巴斯光学株式会社,型号CX23);UPLC-Orbitrap Fusion Lumos Tribrid/MS(美国赛

默飞世尔科技有限公司,型号EASY-nLC 1000);高速离心机(德国Eppendorf公司,型号Centrifuge 5424R);冷冻高速离心机(德国Gene公司,型号1730R);PepMap RSLC C₁₈色谱柱(75 μm×25 cm, 2 μm, 美国赛默飞世尔科技公司)。

2 方法

2.1 造模分组与给药 将50只SD大鼠按随机数字表法分为空白组、模型组、逐痰通络颗粒低中高剂量组,每组10只。除空白组外,其余各组大鼠用10%水合氯醛(3 mL/kg)腹腔注射麻醉,剃光右膝关节周围毛,75%乙醇消毒皮肤,轻弯右膝关,在髌韧带附着点外上方约0.5 cm处进针,将0.2 mL 4%木瓜蛋白酶溶液注入右膝关节腔,每隔3 d注射1次,连续注射3次。7 d后观察大鼠行为变化,若大鼠右后肢出现收缩、跛行等现象,则视为造模成功;空白组大鼠右膝关节腔注射等体积生理盐水。取逐痰通络颗粒适量,用蒸馏水溶解,制成质量浓度为200 mg/mL的药液。根据临床剂量换算,逐痰通络颗粒低、中、高剂量组大鼠分别以90、180、360 mg/kg的剂量灌胃给予逐痰通络颗粒药液,每天1次,持续36 d;空白组常规喂养。

2.2 大鼠一般情况及体质量观察 观察大鼠的一般情况,并分别于给药后第1、4、7、10、13、16、19、22、25、28、31、34天称定各组大鼠体质量。

2.3 HE染色法观察膝骨关节软骨组织病理形态 将大鼠麻醉后处死,去除膝关节处皮毛,完整取下膝关节软骨,收集软骨组织,以4%多聚甲醛固定过夜,于EDTA中脱钙后用石蜡包埋,切成5 μm的组织切片,HE染色,于光学显微镜下观察并采集图像。

2.4 ELISA法检测血清TNF-α、IFN-γ、IL-1β、IL-17水平 于最后一次给药后1 h,麻醉大鼠进行腹主动脉采血,3 000 r/min离心10 min后取上清液,-80 ℃冰箱保存。取大鼠血清适量,按照ELISA试剂盒说明书检测血清TNF-α、IFN-γ、IL-1β、IL-17水平。

2.5 大鼠膝骨关节软骨组织的蛋白质组学检测

2.5.1 色谱条件 PepMap RSLC C₁₈色谱柱(75 μm×25 cm, 2 μm);流动相0.1%甲酸(A)-乙腈(含0.1%甲酸)(B),梯度洗脱程序见表1;体积流量0.3 μL/min;柱温60 ℃;进样量3 μL。

表1 梯度洗脱程序

时间/min	A 0.1% 甲酸/%	B 乙腈(含 0.1% 甲酸)/%
0~2	98~92	2~8
2~112	92~72	8~28
112~114	72~10	28~90
114~120	10	90

2.5.2 质谱条件 电喷雾离子源(ESI);正离子模式扫描;电喷雾电压2.1 kV;全扫描分辨率120 000(FWHM);质量扫描范围m/z 350~1 600;碰撞能30%;隔离窗口m/z 0.7。

2.5.3 蛋白质组学研究 采用非标记蛋白质组学技术对干预前后蛋白表达差异进行检测。(1)蛋白提取和沉淀: 使用无菌剪刀将软骨组织样品剪碎,加入裂解液(7 mol/L 尿素, 2% SDS, 50 mmol/L Tris-HCl, pH 8)提取蛋白, 测定蛋白浓度后取 500 μg 蛋白溶液, 加入 DTT、碘代乙酰胺进行还原烷基化, 1 h 后迅速加入-20 °C 预冷的 6 倍体积丙酮过夜沉淀。(2)蛋白酶解: 次日, 取沉淀, 80% 乙醇洗涤后加入 TEAB 溶解沉淀, 按 1:40 加入胰酶进行酶解, 37 °C 摆床反应 12 h。(3)多肽脱盐: 根据说明书采用 Sep-Pak C₁₈ 脱盐柱对多肽样本进行脱盐, 并采用多肽定量试剂盒测定洗脱液的多肽浓度, 最后将洗脱液分装并冷冻干燥, 待测。

2.6 Western blot 法检测大鼠膝骨关节软骨组织蛋白表达 取新鲜大鼠关节软骨组织剪碎, 置于 2% SDS 裂解液 EP 管中, 加入钢珠, 利用匀浆仪磨碎后室温放置 20 min 充分裂解, 10 000 r/min 离心 30 min, 取上清液, BCA 法测定蛋白浓度。取适量蛋白样品在 100 °C 条件下变性 3~5 min, 取 20 μg 蛋白样品进行 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离 1 h, 随后转移到 PVDF 膜上, 室温下用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, TBST 洗膜 3 次, 并在 4 °C 条件下加入针对靶蛋白的一抗孵育过夜, TBST 洗涤 3 次, 加入二抗后 37 °C 避光孵育 60 min, 加 ECL 发光液显色, 并采用 Image J 软件进行灰度值分析。以 β-actin 为内参, 计算目的蛋白相对表达。

2.7 统计学分析 通过 GraphPad 9.5.1 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验或秩和检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 若数据不满足正态分布, 则采用非参数检验。*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠形态学及体质量变化 空白组大鼠发育良好、毛色浓密光亮, 日常活动、饮食能量摄入量、体质量、膝关节活动均正常; 模型组大鼠毛色无光泽, 饮食能量摄入量减少, 体质量降低, 膝关节处肿胀明显, 部分带有淤紫, 活动状态明显受限; 与模型组比较, 各给药组大鼠饮食能量摄入量增加, 体质量增长速度加快, 膝关节肿胀及活动状态明显改善, 见图 1。

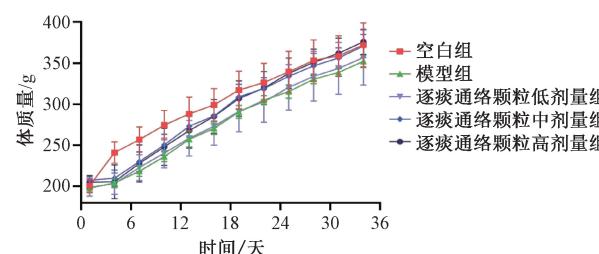
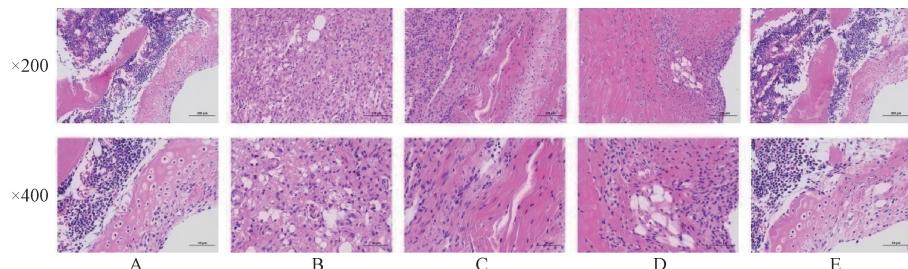


图 1 逐痰通络颗粒对 KOA 大鼠体质量的影响

3.2 逐痰通络颗粒对 KOA 大鼠膝骨关节软骨组织病理形态的影响 由图 2 可知, 空白组大鼠膝骨关节软骨组织结构清晰完整, 未发现明显的骨侵蚀或骨质破裂, 内衬层为单层或双层滑膜细胞, 无炎性细胞的浸润及纤维组织增生; 模型组大鼠的滑膜细胞增生明显, 存在炎性细胞浸润, 关节面部分被破坏, 出现纤维结缔组织且呈多纤维样不规则排列; 与模型组比较, 各给药组大鼠膝骨关节软骨组织病理形态均有一定程度的改善, 其中逐痰通络颗粒高剂量组改善最明显, 偶见滑膜增生, 未发现新生血管浑浊。



注: A~E 分别为空白组、模型组及逐痰通络颗粒低、中、高剂量组。

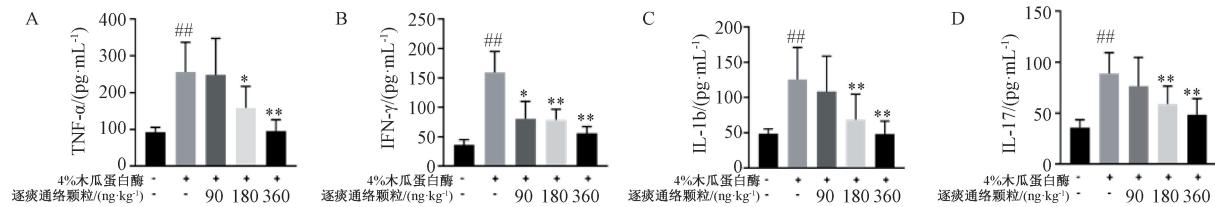
图 2 各组大鼠膝骨关节软骨组织病理形态 (HE 染色)

3.3 逐痰通络颗粒对 KOA 大鼠血清炎症指标的影响 由图 3 可知, 与空白组比较, 模型组大鼠血清 TNF-α、IFN-γ、IL-1β、IL-17 水平升高 (*P*<0.01); 与模型组比较, 逐痰通络颗粒中、高剂量组大鼠血清 TNF-α、IFN-γ、IL-1β、IL-17 水平降低 (*P*<0.05, *P*<0.01), 逐痰通络颗粒低剂量组大鼠血清 IFN-γ 水平降低 (*P*<0.05), TNF-α、IL-1β、IL-17 水平无明显变化 (*P*>0.05)。

3.4 逐痰通络颗粒对 KOA 大鼠膝骨关节软骨组织差异蛋白的影响 Label free 蛋白质组学技术分析结果显示, 共鉴定得到 5 623 个蛋白。与空白组比较, 模型组有 63 个蛋白表达发生变化 ($FC \geq 1.2$ 倍或 $FC \leq 0.8$, 且 *P*<0.05), 其中

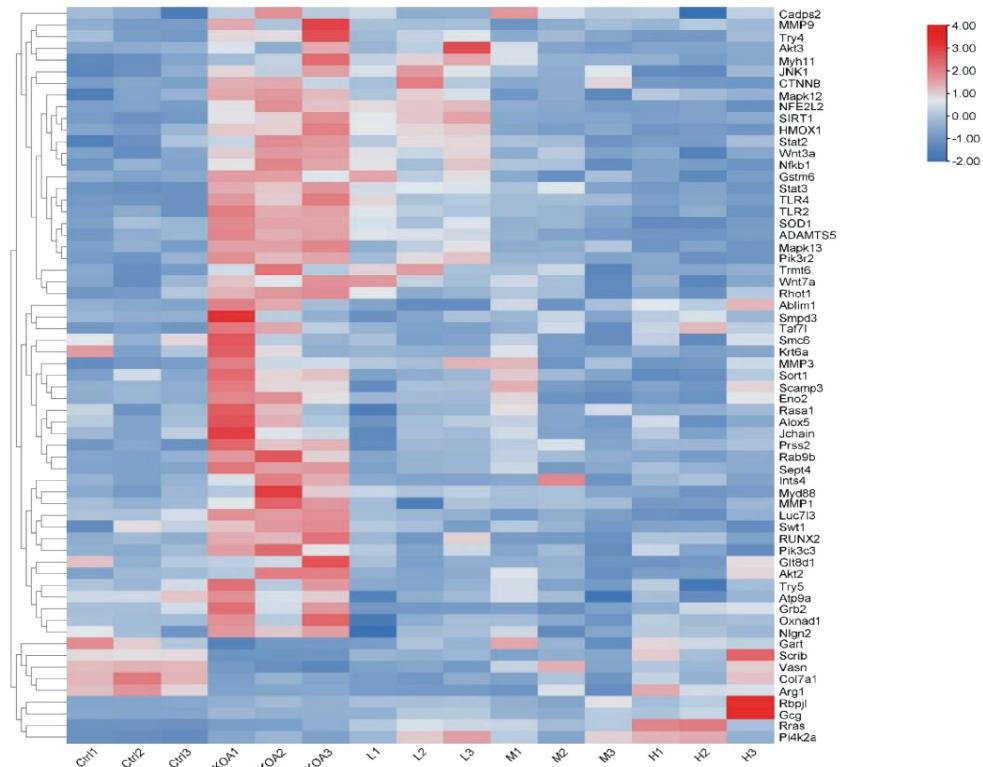
上调蛋白 10 个, 下调蛋白 53 个; 与模型组比较, 各给药组的 63 个差异蛋白均有所下调。使用 Complexheatmap R 包 (R Version 3.4) 同时从样品和蛋白质的表达量两个维度进行分类, 并生成层次聚类热图, 每列代表一组样品, 每行代表一个蛋白; 其中颜色越红表示相对表达量越高, 越蓝表示相对表达量越低, 如图 4 所示。由此可知, 与空白组比较, 模型组差异蛋白表达量普遍较高, 经不同剂量逐痰通络颗粒干预后, 差异蛋白表达量降低。

3.5 逐痰通络颗粒对 KOA 大鼠膝骨关节软骨组织 TLRs/MMPs/PI3K/NF-κB 信号通路相关蛋白表达的影响 如图 5 所示, 与空白组比较, 模型组大鼠膝骨关节软骨组织



注: 与空白组比较, ##P<0.01; 与模型组比较, *P<0.05, **P<0.01。

图3 逐痰通络颗粒对 KOA 大鼠血清炎症指标的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)



注: Ctrl 为对照组, KOA 为模型组, L~H 分别为逐痰通络颗粒低、中、高剂量组。

图4 差异蛋白层次聚类热图

TLR2、TLR4、MMP1、p-NF- κ B、ADAMTS5、p-p38、p-PI3K蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，MMP3蛋白表达无明显差异 ($P>0.05$)；与模型组比较，逐痰通络颗粒高剂量组大鼠膝骨关节软骨组织 TLR2、TLR4、MMP1、MMP3、p-NF- κ B、ADAMTS5、p-p38、p-PI3K蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，逐痰通络颗粒中剂量组 p-p38、p-PI3K、ADAMTS5蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，逐痰通络颗粒低剂量组各蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$)。表明逐痰通络颗粒可通过下调 TLR2/MMPs/p38/NF- κ B、TLR4/PI3K/Akt 信号通路，从而发挥治疗 KOA 的作用。

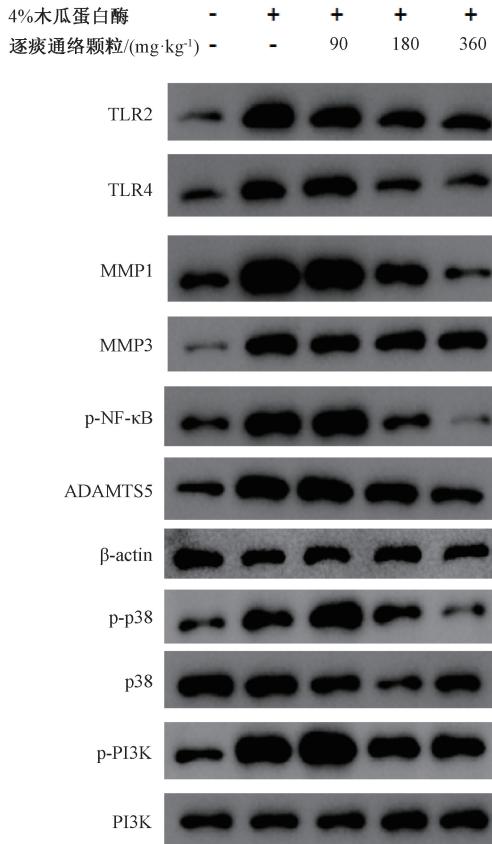
4 讨论与结论

炎性因子在 KOA 损伤中至关重要^[3]，存在于关节中的 MAIT 细胞激活后分泌多种细胞因子，如 TNF- α 、IL-17 等，进而促进 IL-1 β 等趋化因子的释放，引发炎症反应^[12-13]，提示 KOA 发病机制与炎性因子相关。

TLR4 是一种 I 型跨膜糖蛋白受体，在骨关节炎进展中

起关键作用^[14]。TLR4 通过抑制 MyD88/NF- κ B 通路上的磷酯酰肌醇 3-激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B (Akt) 磷酸化，作用于下游靶分子如 NF- κ B，调节软骨细胞存活、自噬与凋亡，介导软骨组织损伤过程^[15-16]。研究表明，抗软骨细胞凋亡的经典通路是 PI3K/Akt 信号通路，该通路的激活与软骨的退行性病变和 KOA 易感性密切相关^[17]。由蛋白质组学和 Western blot 结果可知，模型组中 TLR4、p-PI3K 蛋白表达升高，经药物干预后降低，因此初步推断逐痰通络颗粒可能通过抑制炎性蛋白 TLR4，减轻炎症反应，抑制 PI3K/Akt 的磷酸化，抑制软骨细胞凋亡，发挥治疗 KOA 的作用。

NF- κ B 与软骨的退化、滑膜炎症等骨关节炎的发生和发展密切相关^[18]。发生炎症反应时，TLR2 激活下游的转化生长因子激酶 1 (TAK1)，导致 NF- κ B 从细胞质进入细胞核，诱导炎性因子表达^[19-20]。TAK1 也可激活 p38 MAPK 磷酸化，产生 p-p38 MAPK，使 p-p38 MAPK 表达量增加，



注: 与空白组比较, $^{\#}P<0.05$, $^{\#\#}P<0.01$; 与模型组比较, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ 。

图5 逐痰通络颗粒对KOA大鼠膝骨关节软骨组织TLRs/MMPs/PI3K/NF-κB信号通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

激活相关炎症转录因子进入细胞核, 与NF-κB共调控炎症因子表达, 导致软骨细胞凋亡, 诱导膝关节损伤^[20-22]。此外, NF-κB还可以通过基因启动子如基质金属蛋白酶1(MMP1)和MMP3, 从而促进促炎和抗炎介质表达, 包括COX-2、前列腺素E₂和iNOS^[23]。本研究推测逐痰通络颗粒可以下调TLR2、NF-κB、p-p38 MAPK、MMP1、MMP3蛋白的表达, 下调软骨细胞炎症因子TNF-α、IFN-γ、IL-1β、IL-17释放, 减轻软骨细胞炎症反应, 抑制破骨细胞生成及软骨细胞凋亡。说明逐痰通络颗粒抗KOA作用, 除了与TLR4/PI3K/Akt通路有关外, 还与TLR2/MMPs/p38/NF-κB信号通路的抑制密切相关。

RUNX2是软骨细胞发育和肥大的调节因子, 通过抑制RUNX2可下调关节软骨细胞中下游调节因子ADAMTS5的蛋白表达, 从而保护关节软骨免受骨关节炎损伤^[24-25]。Zhao等^[26]研究发现调控ADAMTS5可以降低骨关节炎的风险; Deng等^[27]研究证实, 在KOA大鼠中RUNX2和ADAMTS5蛋白表达上调, 与本研究结果一致; Hoshi等^[28]研究发现敲除RUNX2和ADAMTS5具有保护软骨作用。本研究发现, 逐痰通络颗粒可以下调RUNX2、ADAMTS5蛋白表达, 具体作用机制还需进一步验证。

根据本实验结果, 初步推测逐痰通络颗粒干预KOA的

分子机制主要通过调控TLR2/MMPs/p38/NF-κB和TLR4/PI3K/Akt两条信号通路, 主要下调TLR2、TLR4、PI3K等蛋白表达, 降低NF-κB、p38、Akt等蛋白磷酸化水平, 从而干预TLR4-PI3K/Akt信号通路; 同时对RUNX2/ADAMTS5轴产生影响, 抑制RUNX2蛋白表达, 进而抑制下游调节因子ADAMTS5蛋白表达, 间接干预TLR2/MMPs/p38/NF-κB信号通路, 进一步下调相关下游调节因子蛋白表达; 最终通过抑制转录因子将细胞信号传递进细胞核, 减少多种细胞炎性因子IFN-γ、TNF-α、IL-17、IL-1β的释放, 阻止炎症反应, 延缓KOA的发展。

综上所述, 本研究通过发现逐痰通络颗粒通过TLR4/PI3K/Akt、TLR2/MMPs/p38/NF-κB、RUNX2/ADAMTS5轴等多个信号通路抑制炎症、滑膜细胞增生, 且呈剂量依赖性, 证实了逐痰通络颗粒治疗KOA的潜在疗效与作用机制。鉴于中药复方具有多靶点、多成分的特征, 其作用机制仍需进一步深究, 对进一步探究KOA的中医药临床治疗具有重要意义。

参考文献:

- [1] 陈卫衡.膝骨关节炎中医诊疗指南(2020年版)[J].中医正骨,2020,32(10):1-14.

- [2] 王迷娜, 刘璐, 赵洛鹏, 等. 膝骨关节炎炎性因子及信号通路的研究进展[J]. 中国骨伤, 2020, 33(4): 388-392.
- [3] 郭静, 勾向博, 张文丽, 等. 骨关节炎患者膝关节软骨和滑膜中p38MAPK、NF- κ B的表达及其意义[J]. 河北联合大学学报(医学版), 2013, 15(6): 749-751.
- [4] Ding Y, Wang L, Zhao Q, et al. MicroRNA-93 inhibits chondrocyte apoptosis and inflammation in osteoarthritis by targeting the TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(2): 779-790.
- [5] Tang X, Wang S F, Zhan S Y, et al. The prevalence of symptomatic knee osteoarthritis in China: Results from the China health and retirement longitudinal study[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2016, 68(3): 648-653.
- [6] Li D H, Li S J, Chen Q, et al. The prevalence of symptomatic knee osteoarthritis in relation to age, sex, area, region, and body mass index in China: A systematic review and meta-analysis[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2020, 7: 304.
- [7] 王悦, 叶超, 刘向春, 等. 膝关节骨性关节炎中医证型与外周血炎症指标的相关性研究[J]. 江苏中医药, 2021, 53(10): 34-37.
- [8] McAlindon T E, Bannuru R R, Sullivan M C, et al. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee osteoarthritis[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2014, 22 (3): 363-388.
- [9] 钱智, 陶红慧, 尤晓燕, 等. 双波长HPLC法同时测定逐瘀通络合剂中3种有效成分[J]. 贵州医药, 2020, 44(7): 1145-1147.
- [10] 许学猛, 刘文刚, 许树柴, 等. 膝骨关节炎(膝痹)中西医结合临床实践指南[J]. 实用医学杂志, 2021, 37(22): 2827-2833.
- [11] 陈巍, 吴军豪, 闻国伟, 等. 石氏逐瘀通络补肾方治疗膝骨性关节炎的临床观察[J]. 中医临床研究, 2019, 11(30): 89-92.
- [12] Dusseaux M, Martin E, Serriari N, et al. Human MAIT cells are xenobiotic-resistant, tissue-targeted, CD161hi IL-17-secreting T cells[J]. *Blood*, 2011, 117(4): 1250-1259.
- [13] Kumar V, Ahmad A. Role of MAIT cells in the immunopathogenesis of inflammatory diseases: New players in old game[J]. *Int Rev Immunol*, 2018, 37(2): 90-110.
- [14] Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity[J]. *Immunity*, 2011, 34(5): 637-650.
- [15] 朱道宇, 杨前昊, 高悠水, 等. TLR4通路与激素性股骨头坏死关系的研究进展[J]. 中国骨与关节杂志, 2019, 8(1): 75-79.
- [16] 邓欢, 吕艺蓁, 刘宣, 等. PI3K/AKT信号通路调控骨关节疾病软骨细胞自噬及损伤的机制[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2022, 43(2): 309-314.
- [17] Ungsudechachai T, Honsawek S, Jittikoon J, et al. Clusterin exacerbates interleukin-1 β -induced inflammation via suppressing PI3K/Akt pathway in human fibroblast-like synoviocytes of knee osteoarthritis[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 9963.
- [18] 李辉, 谢兴文, 李建国, 等. NF- κ B信号通路在骨关节炎中的作用[J]. 生命的化学, 2021, 41(9): 1915-1919.
- [19] 龚辉, 邓奕辉, 王衡新, 等. TOLL样受体2、4及其介导的NF- κ B信号通路参与类风湿关节炎发病的研究进展[J]. 中医正骨, 2018, 30(7): 29-31.
- [20] 郭庭余, 陈祝明, 邹尚浏, 等. TLRs受体及其在RA发病信号传导的研究进展[J]. 系统医学, 2020, 5(17): 196-198.
- [21] 娄飞, 周莹, 蒋翠蕾, 等. 基于TLR4/MAPKs/NF- κ B信号通路探讨蠲痹汤对寒湿痹阻证类风湿关节炎模型大鼠的治疗作用及机制研究[J]. 中药材, 2021, 44 (9): 2200-2204.
- [22] Guan T, Ding L G, Lu B Y, et al. Combined administration of curcumin and chondroitin sulfate alleviates cartilage injury and inflammation via NF- κ B pathway in knee osteoarthritis rats[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 882304.
- [23] Choi M C, Jo J, Park J, et al. NF- κ B Signaling pathways in osteoarthritic cartilage destruction[J]. *Cells*, 2019, 8(7): 734.
- [24] Mokuda S, Nakamichi R, Matsuzaki T, et al. Wwp2 maintains cartilage homeostasis through regulation of ADAMTS5[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2429.
- [25] Thirunavukkarasu K, Pei Y, Wei T. Characterization of the human ADAMTS-5 (aggrecanase-2) gene promoter[J]. *Mol Biol Rep*, 2007, 34(4): 225-231.
- [26] Zhao S S, Karhunen V, Morris A P, et al. ADAMTS5 as a therapeutic target for osteoarthritis: Mendelian randomisation study[J]. *Ann Rheum Dis*, 2022, 81(6): 903-904.
- [27] Deng R L, Zhang H J, Huang L, et al. MicroRNA-186 ameliorates knee osteoarthritis via regulation of P2X7-mediated Cathepsin-K/Runx2/ADAMTS5 signalling axis in articular chondrocytes[J]. *Saudi J Biol Sci*, 2021, 28(8): 4270-4275.
- [28] Hoshi H, Akagi R, Yamaguchi S, et al. Effect of inhibiting MMP13 and ADAMTS5 by intra-articular injection of small interfering RNA in a surgically induced osteoarthritis model of mice[J]. *Cell Tissue Res*, 2017, 368(2): 379-387.