

## · 基础研究 ·

低频超声促透威灵仙对早期兔膝关节炎的  
干预作用及机制研究潘娅岚<sup>1,2,3</sup> 马 勇<sup>1,3</sup> 涂鹏程<sup>1,3</sup> 郑苏阳<sup>1,3</sup> 郭 杨<sup>1,3</sup> 吴承杰<sup>1,3</sup>

**摘要** 目的 观察低频超声促透威灵仙治疗新西兰白兔膝关节炎(KOA)的作用机制。方法 将新西兰白兔 30 只随机分为正常组、假手术组、模型组、威灵仙外敷组、超声透水组、超声促透威灵仙组,每组 5 只。采用切断膝关节前交叉韧带方法造成典型的 KOA 模型,各组不同干预后,采用 KOA 程度指数(Lequesne 指数)评价兔 KOA 严重程度,大体观察,甲苯胺蓝染色、HE 染色及软骨病理(Mankin's)评分观察组织病理变化,ELISA 法检测血清中炎症因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平;Western Blot 法检测基质金属蛋白酶-13(MMP-13)、Wnt3、 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)及 II 型胶原的表达。结果 以威灵仙有效成分常春藤皂苷元浓度为参考标准,超声输出功率为 30 W 时促透效果最好。与模型组比较,威灵仙外敷组和超声促透威灵仙组 Lequesne 指数有明显下降,软骨组织 Mankin's 评分亦显著降低( $P<0.05$ );血清 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  含量均明显减少,且超声促透威灵仙组更低( $P<0.05$ );超声促透威灵仙干预后,膝关节软骨中 MMP-13、 $\beta$ -catenin 表达显著减少,II 型胶原的表达有一定的上升,与模型组比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。结论 超声电导仪在输出功率为 30 W 时促透治疗 KOA 的效果最佳,超声促透威灵仙干预的机制可能与其抑制 Wnt 3/ $\beta$ -catenin 信号通路及其靶基因 MMP-13 的表达有关。

**关键词** 超声;威灵仙;膝关节炎;外治法

**Effect and Mechanism of Clematis chinensis Osbeck Penetration by Low-frequency Ultrasonic on Early Knee Osteoarthritis Rabbits** PAN Ya-lan<sup>1,2,3</sup>, MA Yong<sup>1,3</sup>, TU Peng-cheng<sup>1,3</sup>, ZHENG Su-yang<sup>1,3</sup>, GUO Yang<sup>1,3</sup>, and WU Cheng-jie<sup>1,3</sup> 1 Laboratory of New Techniques of Restoration & Reconstruction of Orthopedics and Traumatology, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing (210023); 2 School of Nursing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing (210023); 3 Institute of Traumatology & Orthopedics, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing (210023)

**ABSTRACT Objective** To observe the effect and mechanism of *Clematis chinensis* Osbeck (CCO) penetration by low-frequency ultrasonic in the treatment of knee osteoarthritis in New Zealand white rabbits. **Methods** Thirty New Zealand white rabbits were randomly divided into normal group, sham-operative group, model group, CCO group, ultrasonic group, and CCO+ultrasonic group, 5 in each group. Typical KOA model was prepared by anterior cruciate ligament transection. The optimal parameters of low-frequency ultrasound was defined based on the effective components of CCO as the standard. After corresponding interventions, KOA severity degree was evaluated by Lequesne MG score. Toluidine blue stain and HE staining with Mankin's score were used to observe histopathological changes, and levels of inflammatory cytokines such as IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in serum were detected by ELISA. Western Blot was used to detect the expressions of matrix metalloproteinase-13 (MMP-13), Wnt3, beta-catenin, and type II collagen. **Results** When taking ivy saponin as the reference standard, the best penetration effect was a-

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81673995);江苏省自然科学基金青年项目(No. BK20151007);江苏省研究生科研与实践创新计划项目(No. KYCX17\_1308);江苏高校“青蓝工程”资助项目(No. 苏教师[2018]12号)

作者单位:1. 南京中医药大学骨伤修复与重建新技术实验室(南京 210023);2. 南京中医药大学护理学院(南京 210023);3. 南京中医药大学骨伤研究所(南京 210023)

通讯作者:郭 杨, Tel: 025-85811654, E-mail: dguoyang@126.com

DOI: 10. 7661/j. cjim. 20191118. 273

chieved when the ultrasonic output power was 30 W. Compared with the model group, Lequesne MG score and Mankin's score of cartilage in CCO group and CCO+ultrasonic group were significantly lower ( $P < 0.05$ ), and it was significantly lower in CCO+ultrasonic group ( $P < 0.05$ ). IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  contents in serum were significantly reduced in both groups, and lower in ultrasonic group ( $P < 0.05$ ). The expressions of MMP-13 and  $\beta$ -catenin in the knee articular cartilage were significantly decreased and the expressions of type 2 collagen were somewhat increased after the intervention of CCO+ultrasonic, with statistical difference as compared with the model group ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The ultrasonic conductance instrument had the best effect in promoting the penetration of CCO in the treatment of KOA when the output power was 30 W. The mechanism might be possibly related to inhibiting Wnt3/ $\beta$ -catenin signal pathway and the expression of its target gene MMP-13.

**KEYWORDS** ultrasonic; *Clematis chinensis* Osbeck; knee osteoarthritis; external treatment

膝骨性关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是中老年人常见的慢性退行性疾病,且随着老龄化社会的到来,其发病率逐年递增,已成为中老年人致残的重要原因<sup>[1]</sup>。研究早期有效防治 KOA 的治疗手段和药物,延长膝关节的使用寿命,是当前迫切需要解决且具有重大意义的课题。

KOA 属中医学“痿痹”“骨痹”范畴。近年来,中药外治在治疗 KOA 方面有着简便、不良反应小的优势,其近期疗效优于西药,不良事件发生率显著低于口服西药<sup>[2]</sup>。威灵仙及其制剂在临床上被广泛应用<sup>[3]</sup>。本课题组在前期临床研究发现威灵仙熏洗可有效缓解 KOA 患者疼痛,改善膝关节功能,同时也可避免关节腔注射威灵仙带来的异物反应、致关节肿胀、部分关节面腐蚀的弊端<sup>[4]</sup>。但传统外治法仍存在药物分子释放度差、透皮速率低等缺点,超声电导药物促透技术提供了药物进入体内的生物通道和驱动力,可有效地提高药物的透皮速率,特别是能够实现蛋白、中药有效成分等大分子药物的透入<sup>[5]</sup>。课题组在 KOA 动物模型基础上,观察低频超声促透威灵仙的作用效果及强度,结合 Wnt/ $\beta$ -连环蛋白(Wnt/ $\beta$ -catenin)信号通路中相关分子的表达改变,初步探索了超声促透威灵仙干预早期 KOA 药效实验,现报告如下。

## 材料与方法

1 动物及分组 雌性成年新西兰白兔 45 只,体重(3.5 $\pm$ 0.5) kg,购自南京青龙山饲养繁殖场,合格证号:SCXK(苏)2017-0011。适应性喂养 1 周后,分组实验。其中 15 只兔用于参数优化实验,按随机数字表法分为 15 W 超声组(简称 A 组)、30 W 超声组(简称 B 组)、45 W 超声组(简称 C 组)、60 W 超声组(简称 D 组)、无超声干预对照组(简称 E 组),每组 3 只。30 只兔用于干预机制实验,随机数字表法分为正常

组、假手术组、KOA 模型组(简称模型组)、威灵仙外敷组、超声透水组、超声促透威灵仙组,每组 5 只。本实验通过南京中医药大学动物实验伦理委员会审批(No. ACU170815)。

2 药物 威灵仙标准品(G248-V9TO,中国食品药品检定研究院)用 ddH<sub>2</sub>O 配制成 1 g/mL 混悬液,常春藤皂苷元标准品(SBJ-I20167,南京森贝伽)用 ddH<sub>2</sub>O 配制成 10 mg/mL 溶液,明胶海绵浸透药液,外敷于膝关节局部。

3 主要试剂及仪器 乙腈、盐酸、磷酸、甲醇等常规化学试剂均购自国药集团化学试剂有限公司。基质金属蛋白酶-13(matrix metalloproteinase-13, MMP-13)抗体、羊抗小鼠二抗购自美国 Proteintech 公司、II 型胶原抗体购自美国 Novus 公司、Wnt 3 抗体、 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)抗体、肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体及羊抗兔二抗均购自美国 Santa Cruz 公司。NAVA-TD 超声电导仪(北京诺亚同舟医疗技术有限公司),2695 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司)。

## 4 方法

4.1 KOA 模型制备 除正常组和假手术组外,采用切断膝关节前交叉韧带方法<sup>[6]</sup>制造典型的 KOA 模型,具体:左膝为手术侧,右膝为对照侧;3%戊巴比妥钠以 1 mL/kg 经兔耳缘静脉注射麻醉仰卧位固定四肢,无菌条件下,在左膝关节内侧长约 3 cm 处切口,打开关节腔,切断前交叉韧带;假手术组只切开关节囊,打开关节腔,不切断前交叉韧带,生理盐水冲洗关节后,逐层缝合关节囊和皮肤,术后不固定伤肢,放入笼中饲养,任其自由活动;术后每只动物每天肌肉注射青霉素 40 万 U 预防感染。1 周后开始强迫兔活动膝关节,0.5 h/次,每天 2 次,连续 4 周。

## 4.2 干预措施

4.2.1 超声干预具体方法 兔左侧膝关节备

皮,温水擦拭干净,明胶海绵于药液浸泡后置于膝关节股骨下段外侧平坦处,上方放置超声探头,使与浸药海绵接触,超声促透组打开超声电导仪,超声作用参数:频率:29.78KHz,探头直径:8 mm,干预时长:30 min/次。

**4.2.2 参数优化实验** 明胶海绵浸透常春藤皂苷元(威灵仙主要成分<sup>[7]</sup>)药液置于膝关节相应位置,A~D组分别给予15、30、45、60 W强度的低频超声促透干预,E组不施加超声干预,每次30 min,每天1次。

**4.2.3 干预机制实验** 正常组兔不做手术,假手术组逐层打开关节腔后不切断交叉韧带,其余组采用切断膝关节前交叉韧带方法造成典型的KOA模型。威灵仙外敷组和超声促透威灵仙组使用浸泡威灵仙药液的明胶海绵,其余组使用浸泡双蒸水的明胶海绵,超声透水组和超声促透威灵仙组施加低频超声干预,每次30 min,每天1次,共28天。

#### 4.3 观察指标及检测方法

**4.3.1 常春藤皂苷元在不同组织中的分布** 不同强度超声促透干预后,采集各组兔干预关节的皮肤、肌肉组织,抽取关节灌洗液(于关节外侧进针,刺入关节腔,回抽无血后,双蒸水1 mL分3次冲洗关节腔,获得关节冲洗液,回收量约500  $\mu$ L。经离心后,取上清液),打开关节腔,采集滑膜组织,经不同前处理后,高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)法检测各组织样本中常春藤皂苷元的浓度,确定最佳超声促透参数。

**4.3.2 兔 KOA 严重程度** 采用 Lequesne 指数<sup>[8]</sup>评价兔 KOA 严重程度,主要包括局部反应、步态反应、关节活动以及关节肿胀4个方面。

**4.3.3 膝关节软骨形态及基质蛋白表达** 大体观察膝关节软骨形态后包埋,制作石蜡切片,甲苯胺蓝染色观察软骨基质表达。

**4.3.4 膝关节软骨病理** 采用 HE 染色及软骨阁下现(Mankin's)评分观察组织病理变化。

**4.3.5 炎症因子水平** 采用 ELISA 法检测血清中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  含量。

**4.3.6 软骨相关功能、机制蛋白水平** 采用 Western Blot 法检测 MMP-13、Wnt 3、 $\beta$ -catenin 及 II 型胶原的表达。

**4.4 统计学方法** 所得数据采用 SPSS 17.0 统计软件包进行分析,正态分布定量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差分析统计组间差异后及采用 Dunnett's t 法比较各组与模型组的差异、LSD 法比较干预

组组间差异,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1 各组兔不同组织中常春藤皂苷元分布浓度比较(表1) E组的常春藤皂苷元浓度以皮肤中最低,肌肉中的最高,从高到低的顺序是肌肉、关节液、滑膜、皮肤;A、B、C、D组中的常春藤皂苷元浓度均以滑膜中最低,A组关节液中最高,但与肌肉中含量比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),B~D组均为肌肉中的最高,与肌肉比较,同组其余部位差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。关节液中的常春藤皂苷元含量B组最高,与B组比较,其余各组差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),B组中常春藤皂苷元含量由高到低是肌肉、关节液、皮肤、滑膜,促透效果以超声输出功率30 W时最好。

表1 各组兔不同组织中常春藤皂苷元分布浓度的比较 (mg/L,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别 | n | 皮肤                 | 肌肉                | 滑膜                 | 关节液                         |
|----|---|--------------------|-------------------|--------------------|-----------------------------|
| A  | 3 | 1.453 $\pm$ 0.565* | 2.708 $\pm$ 0.661 | 1.308 $\pm$ 0.450* | 2.725 $\pm$ 0.746 $\Delta$  |
| B  | 3 | 4.665 $\pm$ 1.012* | 7.862 $\pm$ 1.811 | 2.760 $\pm$ 1.112* | 5.577 $\pm$ 1.514*          |
| C  | 3 | 4.675 $\pm$ 0.506* | 9.067 $\pm$ 1.230 | 3.113 $\pm$ 0.769* | 5.027 $\pm$ 0.667*          |
| D  | 3 | 5.043 $\pm$ 1.107* | 9.478 $\pm$ 1.241 | 2.498 $\pm$ 1.085* | 4.365 $\pm$ 0.786*          |
| E  | 3 | 0.415 $\pm$ 0.218* | 3.997 $\pm$ 0.403 | 0.575 $\pm$ 0.165* | 1.450 $\pm$ 0.235* $\Delta$ |

注:与同组肌肉比较,\* $P < 0.01$ ;与B组关节液中含量比较, $\Delta P < 0.05$

2 各组 Lequesne 指数比较(表2) 与正常组比较,假手术组在局部反应、步态反应、关节活动和关节肿胀方面差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),与正常组比较,模型组 Lequesne 指数明显升高( $P < 0.05$ );与模型组比较,威灵仙外敷组和超声促透威灵仙组 Lequesne 指数明显下降,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

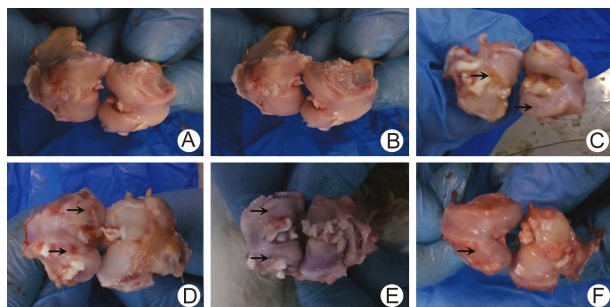
表2 各组 Lequesne 指数比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | n | 局部反应                   | 步态反应                   | 关节活动                   | 关节肿胀                   |
|---------|---|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 正常      | 5 | 1.0 $\pm$ 0.0          | 1.0 $\pm$ 0.0          | 1.0 $\pm$ 0.0          | 1.0 $\pm$ 0.0          |
| 假手术     | 5 | 1.2 $\pm$ 0.5          | 1.0 $\pm$ 0.0          | 1.0 $\pm$ 0.0          | 1.2 $\pm$ 0.5          |
| 模型      | 5 | 3.8 $\pm$ 0.5*         | 3.6 $\pm$ 0.6*         | 3.6 $\pm$ 0.6*         | 2.6 $\pm$ 0.6*         |
| 威灵仙外敷   | 5 | 1.8 $\pm$ 0.8 $\Delta$ | 2.2 $\pm$ 0.8 $\Delta$ | 2.4 $\pm$ 0.9 $\Delta$ | 1.6 $\pm$ 0.6 $\Delta$ |
| 超声透水    | 5 | 3.8 $\pm$ 0.5          | 3.6 $\pm$ 0.6          | 3.2 $\pm$ 0.9          | 2.6 $\pm$ 0.6          |
| 超声促透威灵仙 | 5 | 2.0 $\pm$ 0.7 $\Delta$ | 2.2 $\pm$ 0.8 $\Delta$ | 1.8 $\pm$ 0.8 $\Delta$ | 1.6 $\pm$ 0.6 $\Delta$ |

注:与正常组比较,\* $P < 0.01$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

3 各组膝关节软骨组织形态学比较(图1) 正常组:软骨表面光滑,呈白色透蓝,色泽明亮,表面无裂纹及软化,关节边缘齐整,无骨赘形成。假手术组:与正常兔膝关节接近,光滑透亮,无异常增生或软化。模型组:关节软骨灰暗无光泽,表面粗糙有裂纹,软骨软

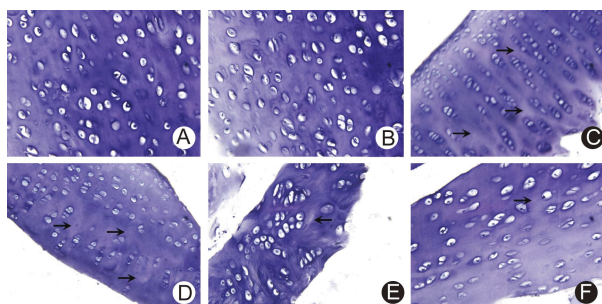
化明显。威灵仙外敷组:关节软骨表面尚光滑,但暗淡缺乏光泽,可见局部轻微软化。超声透水组:关节软骨色泽苍白,局部可见裂纹,软骨软化明显。超声促透威灵仙组和威灵仙外敷组与模型组比较,有一定差别:关节软骨表面基本光滑,有光泽,但色泽稍暗,未见裂纹及软骨软化。



注:A 为正常组;B 为假手术组;C 为模型组;D 为威灵仙外敷组;E 为超声透水组;F 为超声促透威灵仙组;下图同;图中箭头所示为磨损的软骨

图 1 各组兔关节软骨大体形态比较

4 各组兔关节软骨蛋白多糖表达比较(图 2) 正常组中切片甲苯胺蓝染色可见细胞整齐、规则排列,软骨基质呈大面积紫蓝色异染,染色深;假手术组与正常组表现较接近;模型组染色较正常组浅,面积也较小,有些部位出现失染;超声促透威灵仙或外敷威灵仙后,染色深度和面积均明显提高,超声促透威灵仙组颜色最深,接近假手术组,细胞排列较模型组规则;而超声透水组无明显改善。

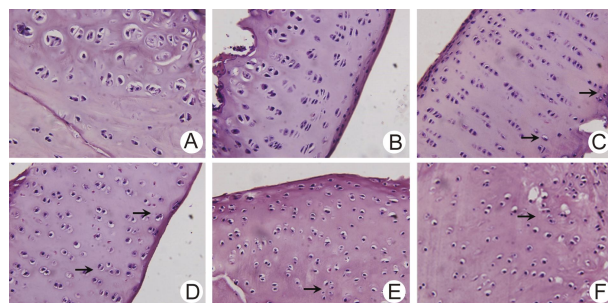


注:图中箭头所示为失染的部位

图 2 各组兔关节软骨蛋白多糖表达比较 (甲苯胺蓝染色,  $\times 40$ )

5 各组 Mankin's 评分比较(表 3) 与正常组比较,假手术组 Mankin's 评分差异无统计学意义 ( $P>0.05$ );与假手术组比较,模型组评分明显上升 ( $P<0.05$ ),威灵仙外敷、超声促透威灵仙组评分均显著降低,且超声促透威灵仙组较威灵仙外敷组评分下降更明显 ( $P<0.05$ )。

6 各组关节软骨病理结果比较(图 3) 正常组:软骨表面光滑,细胞排列正常,分布均匀,层次正常,软骨细胞无簇集,染色正常,潮线清晰。假手术组:软骨表面基本光滑,细胞排列、形态无异常,分布均匀,染色清晰,与正常组相似。模型组:软骨破损,形成明显裂隙,表面粗糙,轻度染色,软骨细胞排列紊乱,数量增多,聚集成簇,层次不清,潮线不完整。威灵仙外敷组:软骨表面较平整,无明显裂隙,软骨细胞排列无序,层次正常,少量簇集,细胞轻度染色,可见潮线。超声透水组:软骨表面粗糙,细胞簇集明显,无序排列,层次不清。超声促透威灵仙组与正常组比较,可以观察到一定差别:软骨细胞染色正常,排列基本正常,极少簇集,层次尚可,潮线完整可见。



注:图中箭头所示为排列紊乱的软骨细胞

图 3 各组关节软骨病理结果比较 (HE 染色,  $\times 40$ )

7 各组兔血清 IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  比较(表 3) 干预 4 周后,与正常组比较,假手术组血清中 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  含量均较低,但差异无统计学意义 ( $P>0.05$ );与假手术组比较,模型组 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  含量明显升高 ( $P<0.01$ );与模型组比较,超声促透威灵仙组和威灵仙外敷组 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  含量均明显减少,且超声促透威灵仙组含量更低 ( $P<0.05$ )。

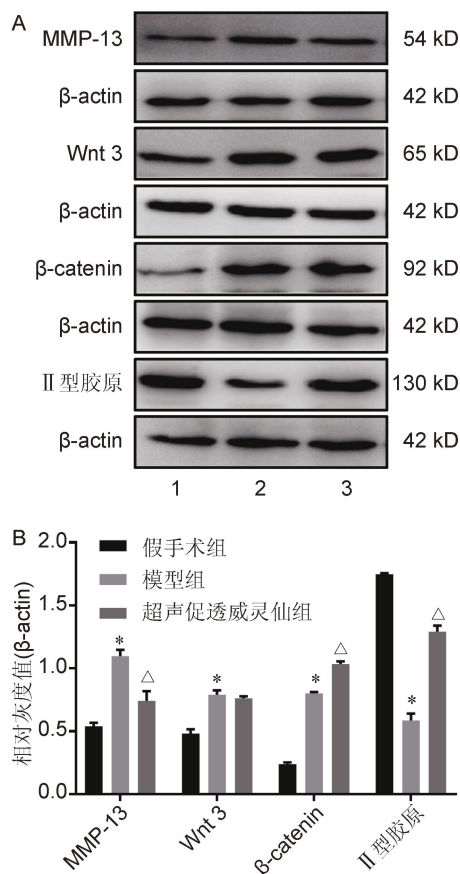
表 3 各组兔 Mankin's 评分及血清中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  含量比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别      | n | Manki's 评分 (分)                 | IL-1 $\beta$ (ng/L)             | TNF- $\alpha$ (ng/L)             |
|---------|---|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| 正常      | 5 | 0.33 $\pm$ 0.52                | 4.49 $\pm$ 1.00                 | 17.30 $\pm$ 2.33                 |
| 假手术     | 5 | 0.50 $\pm$ 0.55                | 4.80 $\pm$ 0.71                 | 16.26 $\pm$ 1.99                 |
| 模型      | 5 | 10.67 $\pm$ 0.82*              | 22.14 $\pm$ 1.64*               | 104.72 $\pm$ 7.15*               |
| 威灵仙外敷   | 5 | 6.17 $\pm$ 1.83 $\Delta$       | 17.08 $\pm$ 1.07 $\Delta$       | 77.52 $\pm$ 8.93 $\Delta$        |
| 超声透水    | 5 | 10.00 $\pm$ 0.89               | 21.24 $\pm$ 1.06                | 101.66 $\pm$ 6.31                |
| 超声促透威灵仙 | 5 | 3.00 $\pm$ 0.89 $\Delta\Delta$ | 10.23 $\pm$ 1.17 $\Delta\Delta$ | 67.13 $\pm$ 10.24 $\Delta\Delta$ |

注:与假手术组比较, \* $P<0.01$ ;与模型组比较,  $\Delta P<0.05$ ;与威灵仙外敷组比较,  $\Delta\Delta P<0.05$

8 各组 MMP-13、Wnt 3、 $\beta$ -catenin 及 II 型胶原比较(图 5) 假手术组膝关节软骨可见有少量 MMP-

13、Wnt 3、 $\beta$ -catenin 蛋白表达,而表达Ⅱ型胶原较多,但模型组膝关节软骨中 MMP-13、Wnt 3、 $\beta$ -catenin 表达明显上调,而Ⅱ型胶原表达明显下调( $P<0.05$ );经超声促透威灵仙干预后,膝关节软骨中 MMP-13、 $\beta$ -catenin 表达显著减少,Ⅱ型胶原的表达有一定的上升,与模型组比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。



注:A 各组蛋白免疫印迹条带;B 各组蛋白表达相对灰度值分析;1 为假手术组,2 为模型组,3 为超声促透威灵仙组;与假手术组比较, \*  $P<0.05$ ;与模型组比较, Δ  $P<0.05$

图 5 3 组兔膝关节软骨组织 MMP-13、Wnt 3、 $\beta$ -catenin 及Ⅱ型胶原蛋白表达电泳图

## 讨 论

《素问·痹论》谓“所谓痹者,各以其时重感于风寒湿之气也”。《中藏经·五痹》谓“骨痹者,乃嗜欲不节,伤于肾则邪气妄入”。大多学者认为,KOA 属“本虚标实、本痿标痹”之证,故治疗上应补益肝肾以治本,祛风湿、通经络、止痹痛以治标,同时注重祛瘀化痰,方能达到很好的疗效<sup>[9]</sup>。其治疗手段也多样化,如中药内服、外用、熏洗、中药离子导入并结合适当的功能锻炼,可在一定程度上改善症状、缓解软骨退变,但仍不能完全阻止骨关节炎的病程发展<sup>[10]</sup>。

中医学熨、灸、熏、蒸等中药外治法可应用于 KOA 的治疗。笔者前期研究发现威灵仙外用熏洗可有效缓解 KOA 患者疼痛,改善膝关节功能<sup>[3,4]</sup>。孙殿统等<sup>[11]</sup>以威灵仙等中药组方辨证治疗骨性关节炎 256 例,总有效率达 91.4%。基础研究表明,威灵仙水煎剂有镇痛消炎作用,其有效成分皂苷类化合物、黄酮类化合物挥发油,能降低兔膝关节滑液中 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、PGE<sub>2</sub> 的浓度<sup>[12]</sup>,抑制炎症相关因子 NO 的释放、增强超氧化物歧化酶的活性<sup>[13]</sup>,减轻软骨细胞的破坏程度。徐扬等<sup>[14]</sup>研究发现威灵仙作为软骨保护药物在合适的药物浓度下对提高骨关节炎软骨细胞的生长活力具有积极作用。

然而,中药的有效成分多为大分子物质,经皮自然吸收很难透过皮肤屏障,因此普通外治法难以满足深部组织局部给药的要求,使得外用药的起效慢、疗效差、疗程长,中药外治法的优势得不到充分发挥。超声电导药物促透技术是一种强力透皮给药技术,可利用超声波辐射压和空化效应,促进药物经皮肤透入体内,达到病变组织和器官,在一定范围内形成局部浓集和浸润从而发挥药物的治疗作用<sup>[5]</sup>。中药有效成分的透皮实验研究主要集中在桂枝、丹参、红花、大黄等等<sup>[15]</sup>,而超声透入中药在药理作用、临床疗效和预后的客观指标等方面尚缺乏系统的深入研究。

本实验成功将超声技术引入了中医药外治法治疗 KOA 的研究,拓展了中医药与医学超声学科交叉的结合模式。本研究表明,NAVA-TD 超声电导仪在输出功率为 30 W 时促透效果最佳,并进一步从 Wnt 3/ $\beta$ -catenin 信号通路揭示了超声促透威灵仙在 OA 的中医药外治法的应用价值,证明超声促透威灵仙干预 KOA 的机制可能与其抑制 Wnt 3/ $\beta$ -catenin 信号通路及其靶基因 MMP-13 的表达有关,为临床转化应用提供了实验基础,但具体通过何种网络综合调控了骨/软骨代谢,是我们下一步研究的重点之一。

利益冲突:无。

## 参 考 文 献

- [1] Kumar SA, Mani K, Anand K, et al. Prevalence of osteoarthritis of knee among elderly persons in Urban Slums using American College of Rheumatology (ACR) Criteria[J]. J Clin Diagn Res, 2014, 8(9): 9-11.
- [2] 徐颖鹏, 谢利民, 王文岳. 中药外治与西药治疗膝骨关节炎疗效及安全性 Meta 分析[J]. 中国中药杂志,

- 2012, 37(19): 2977-2984.
- [3] 马勇, 吴健. 中医内治膝骨性关节炎常用处方饮片分析[J]. 中医正骨, 2005, 17(12): 58-59.
- [4] 张亚峰, 王建伟, 马勇, 等. 臭氧关节腔内注射联合中药威灵仙熏洗治疗膝骨性关节炎疗效观察[J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(4): 174-176.
- [5] 曾庆辉, 侯德才. 超声电导药物透入联合独一味胶囊治疗老年膝关节骨性关节炎临床观察[J]. 实用中医内科杂志, 2014, 28(2): 143-144.
- [6] Tadashi H, Maureen P, Gregga W, et al. The role of subchondral bone remodeling in osteoarthritis: Reduction of cartilage degeneration and prevention of osteophyte formation by alendronate in the rat anterior cruciate ligament transection model[J]. Arthritis Rheumatism, 2004, 50(4): 206-1193.
- [7] 张敏. 威灵仙化学成分及生物活性研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2015, 35(7): 165-168.
- [8] 黎春华, 郭燕梅, 陈蔚, 等. 中文版 Lequesne 指数在膝骨关节炎评价中的评价者间信度[J]. 中国康复理论与实践, 2010, 16(6): 554-555.
- [9] 王国栋. 中医辨证治疗膝骨性关节炎[J]. 中医研究, 2014, 27(1): 10-11.
- [10] 霍乐乐, 陈磊, 高文香. 中医药治疗膝骨关节炎的现状[J]. 风湿病与关节炎, 2016, 5(6): 77-80.
- [11] 孙殿统, 孙海霞, 巴占生, 等. 中医辨证治疗裕固族地区骨性关节炎的临床研究[J]. 内蒙古中医药, 2010, 29(21): 13-15.
- [12] 周效思, 周凯, 谭安雄, 等. 威灵仙对兔膝关节炎症结构和功能的影响[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(10): 2454-2456.
- [13] 孙必强, 张鸣, 李美珍, 等. 威灵仙注射液关节腔离子导入对骨关节炎软骨和滑膜组织形态以及软骨 MMP-1 的影响[J]. 中医临床研究, 2014, 6(17): 1-3.
- [14] 徐扬, 桂鉴超, 高峰, 等. 威灵仙提取物干预膝骨关节炎软骨细胞的生长活力[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(2): 241-246.
- [15] 殷岳杉, 王庆甫, 马玉峰, 等. 低频超声促进中药桂枝局部透入的实验研究[J]. 北京中医药大学学报, 2013, 36(12): 825-828.
- (收稿: 2019-04-11 在线: 2019-12-20)  
责任编辑: 段碧芳  
英文责编: 张晶晶

## 《中国中西医结合杂志》第 16 次荣获“百种中国杰出学术期刊”

2019 年 11 月 19 日, 中国科技论文 2018 年统计结果在京发布。《中国中西医结合杂志》被收录为“中国科技核心期刊”并再次荣获“百种中国杰出学术期刊”。

中国科学技术信息研究所每年出版《中国科技期刊引证报告》发布中国科技论文与引文数据库收录的中国科技论文核心期刊的二十余项文献计量指标, 从 1999 年开始以此为基础, 研制了中国科技期刊综合评价指标体系, 对期刊进行综合评定。2018 年引证报告中, 《中国中西医结合杂志》在中西医结合期刊中总评分排名第 1, 与去年一致; 影响因子排名第 1, 较去年提升 1 名; 总被引频次排名第 2, 与去年一致。2002 年开始, 中国科学技术信息研究所每年评选一次百种中国杰出学术期刊。此次是《中国中西医结合杂志》自 2002 年首次评选以来, 第 16 次入选, 充分彰显我刊的学术影响力。

杂志的发展离不开广大作者、读者以及专家的大力支持, 在此表示由衷的感谢。杂志也愿与广大科研工作者一起努力, 共同促进中西医结合事业发展。