

## 酮咯酸氨丁三醇抑制膝骨关节炎模型大鼠炎性反应

李蓉, 朱含月\*

(无锡市第二人民医院 药剂科, 江苏 无锡 214002)

**摘要:**目的 探究酮咯酸氨丁三醇(KT)对膝骨关节炎(KOA)模型大鼠炎性疼痛的影响,并从Toll样受体4(TLR4)/核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)炎症通路初步探究其作用机制。方法 取大鼠,用随机数字表法分为:对照组、模型组、KT低(1 mg/kg)、高(4 mg/kg)剂量组、TAK-242组(TLR4拮抗剂,1 mg/kg);除对照组外,其余各组均用改良Hulth法复制大鼠右膝KOA模型;肌肉注射KT 1次/d,经尾静脉注射TAK-242 2次/周。观察大鼠膝关节肿胀程度、活动状况,对自发疼痛行为步态评分及检测热痛阈值;取滑膜组织,HE及Masson染色检测组织病理形态变化及纤维组织增生状况;ELISA检测滑膜组织炎症因子白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平;Western blot检测神经突蛋白(neuritin)及通路蛋白TLR4、NF- $\kappa$ B及p-NF- $\kappa$ B、骨桥蛋白(OPN)、整合素金属蛋白酶4(ADAM4)蛋白表达。结果 与对照组相比,模型组大鼠关节肿胀、疼痛、滑膜炎性损伤及纤维组织增生等KOA病理症状严重,滑膜IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平及疼痛指标neuritin表达升高,TLR4/NF- $\kappa$ B p65通路及相关蛋白OPN、ADAM4表达升高( $P < 0.05$ )。与模型组相比,KT低、高剂量组及TAK-242组大鼠KOA疼痛、滑膜炎性反应等病理症状缓解,TLR4/NF- $\kappa$ B p65通路及相关蛋白表达降低( $P < 0.05$ )。结论 KT可缓解KOA模型大鼠滑膜炎性反应及疼痛症状,其缓解作用可能与阻断TLR4/NF- $\kappa$ B通路激活有关。

**关键词:** 酮咯酸氨丁三醇;膝骨关节炎;Toll样受体4/核因子- $\kappa$ B信号通路;炎症反应

中图分类号: R274.9 文献标志码: A

DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2022.03.028

### Ketorolac tromethamine inhibits inflammation in rat models with knee osteoarthritis

LI Rong, ZHU Han-yue\*

(Department of Pharmacy, the Second People's Hospital of Wuxi, Wuxi 214002, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of ketorolac tromethamine (KT) on the inflammatory pain caused by knee osteoarthritis (KOA) of rat model and to explore potential mechanism related to Toll-like receptor 4 (TLR4) / nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) inflammatory pathway. **Methods** The rats were divided into: control group, model group, low (1 mg/kg), high (4 mg/kg) dose KT group, TAK-242 group (TLR4 antagonist, 1 mg/kg) by random number table method; Except for the control group, the other groups used the modified Hulth method to replicate the KOA model of the right knee in rats; KT was administered by intramuscular injection once a day, and TAK-242 was administered by tail vein injection twice a week. The swelling and activity of the knee joint of the rats were recorded, and the spontaneous pain behavior gait and the thermal pain threshold were measured; the synovial tissue

收稿日期: 2020-11-27 修回日期: 2021-07-02

基金项目: 苏州市“科教兴卫”青年科技项目(KJXW2014048)

\* 通信作者(corresponding author): 460395341@qq.com

was sampled , and the histopathological changes and fibrous tissue proliferation were detected by microscopy with HE staining and Masson staining; The expression of interleukin- $1\beta$  ( IL- $1\beta$ ) and tumor necrosis factor- $\alpha$  ( TNF- $\alpha$ ) , neuritin expression and the TLR4 ,NF- $\kappa$ B ,phosphorylated NF- $\kappa$ B ( p-NF- $\kappa$ B) ,osteopontin ( OPN) ,integrin metalloproteinase 4 ( ADAM4) proteins expression in synovium tissue were detected. **Results** Compared with the control group , the model group rats had more severe pathological symptoms of KOA , such as joint swelling , pain , synovial inflammatory damage and fibrous tissue hyperplasia , the IL- $1\beta$  and TNF- $\alpha$  levels and the neuritin expression , the TLR4/NF- $\kappa$ B p65 pathway and related proteins OPN ,ADAM4 expression in synovium increased (  $P < 0.05$  ) . Compared with model group , the pathological symptoms such as KOA pain and synovial inflammation of rats in low , middle and high dose KT groups were alleviated , the TLR4/NF- $\kappa$ B p65 pathway and related proteins expression in synovium decreased (  $P < 0.05$  ) . **Conclusions** KT can relieve the synovial inflammation and pain symptoms of KOA rats; Its relieving effect may be related to blocking the activation of TLR4/NF- $\kappa$ B pathway.

**Key words:** ketorolac tromethamine; knee osteoarthritis; Toll like receptor 4/ nuclear factor- $\kappa$ B signal pathway; inflammation

膝骨关节炎( knee osteoarthritis ,KOA) 多发生于中老年人群 ,以膝盖红肿、疼痛、活动受限、关节软骨退变、滑膜炎性反应等为主要病理症状的疾病<sup>[1]</sup>。KOA 可导致患者关节畸形甚至残废 ,严重影响中老年人生活质量及生命健康<sup>[2]</sup>。目前研究发现 Toll 样受体 4( Toll like receptors 4 ,TLR4) /核因子- $\kappa$ B ( nuclear factor kappa-B ,NF- $\kappa$ B) 信号通路参与 KOA 滑膜炎性反应及纤维组织增生过程<sup>[3]</sup>。酮咯酸氨丁三醇( ketorolac tromethamine ,KT) 为非甾体类抗炎药<sup>[4]</sup> ,对创伤性疼痛、术后疼痛、肿痛、剧烈痛等各种疼痛有较好的治疗效果<sup>[5]</sup>。但 KT 对 KOA 过程中滑膜炎性反应及疼痛的影响 ,未见报道。本研究建立 KOA 大鼠模型 ,对此进行探究 ,以期临床合理用药提供参考。

## 1 材料及方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物: 清洁级雄性 SD 大鼠 60 只 ,体质量 200~220 g [无锡市第二人民医院动物中心提供批号为 IACUC-01( 20160917) ]。本研究经无锡市第二人民医院动物伦理委员会批准同意。

1.1.2 主要试剂: KT 注射液( 上海恒斐生物科技有限公司 ,纯度:  $\geq 99.9\%$ ) ; 柳氮磺胺吡啶( 上海彩佑实业有限公司) ; BCA 蛋白定量试剂盒和胰蛋白酶( Pierce 公司) ; 苏木精-伊红染色( Hematoxylin and Eosin staining ,HE) 染色试剂盒( 上海联迈生物工程技术有限公司) ; 肿瘤坏死因子- $\alpha$  ( tumor necrosis factor- $\alpha$  ,TNF- $\alpha$ ) ELISA 试剂盒( 上海笃玛生物科技

有限公司) ; 白细胞介素- $1\beta$  ( IL- $1\beta$ ) ELISA 试剂盒( 上海茁彩生物科技有限公司) ; TLR4 抗体、NF- $\kappa$ B p65 抗体、磷酸化 NF- $\kappa$ B p65( p-NF- $\kappa$ B p65) 、神经突蛋白( neuritin) 、骨桥蛋白( osteopontin ,OPN) 、N-钙黏素( N-cadherin) 、整合素金属蛋白酶 4( integrin metalloproteinase 4 ,ADAM4) 抗体( Abcam 公司) 。

### 1.2 方法

1.2.1 大鼠的分组及处理: 参照文献 [6] ,于右膝关节内侧取长约 2 cm 的纵切口 ,用改良 Hulth 法建立大鼠 KOA 模型 ,术后 1 周 ,若出现膝关节红肿、步态不协调、跳跃现象 ,表明造模成功 ,将建模成功的大鼠用随机数字表法 ,分为模型组、KT 低( 1 mg/kg) 、高( 4 mg/kg) 剂量组、TAK-242 组( TLR4 拮抗剂 ,1 mg/kg) ,每组 10 只; 另取 10 只大鼠 ,只暴露膝关节 ,作为对照组。造模成功后( 术后第 8 d) 开始给药 ,KT 参照文献 [7] 设置剂量 ,并用 0.9% 氯化钠溶液配制为 0.10、0.40 mg/mL 的混悬液 ,以 10 mL/kg 的体积经右膝关节肌肉处注射给药 1 次/d ,TAK-242 组参照文献 [8] 设置剂量 ,并经尾静脉注射给药 2 次/周; 对照组与模型组肌肉注射给予等量 0.9% 氯化钠溶液 1 次/d ,各组连续给药 2 周。

1.2.2 大鼠膝关节肿胀程度观察及自发疼痛行为步态评分的检测: 末次给药 12 h 后 ,观察大鼠膝关节红肿、肿胀程度 ,参照文献 [9] 将大鼠置于 17 cm/s 的电动跑步机上行走 20 s ,观察大鼠步态行为 ,并进行评分 ,总分以 4 分计 ,得分越高其疼痛行为越严重。

1.2.3 大鼠热刺激撤足痛阈值的检测: 行为步态评

分后,参照文献[9]利用鼠爪热辐射刺激测痛仪检测大鼠后肢足跟部皮肤对热刺激的反应,记录大鼠鼠爪撤足的反应时间,即热痛阈(heat-pain threshold hppt)。

1.2.4 HE及马森(Masson)染色观察大鼠滑膜组织形态及组织纤维增生情况:麻醉处死大鼠,剥离完整滑膜组织(髌骨以下一层平滑光亮且呈浅淡黄色的组织),剪取0.5g滑膜组织,于液氮中保存备用,剩余组织立即放入4%多聚甲醛中固定24h后,进行常规透明、浸蜡、包埋、切片(5 $\mu$ m)。取部分切片,按HE及马森染色试剂盒说明书行染色、封片后,置于显微镜下观察组织染色情况。

1.2.5 免疫组化法检测大鼠滑膜组织neurtin蛋白表达:取1.2.4中剩余切片,常规处理后,加入一抗体(neurtin,1:500)4 $^{\circ}$ C孵育过夜,加入辣根过氧化物酶标记的二抗溶液(1:1000),室温孵育30min,用DAB显色、苏木精复染、封片后,于400倍光镜下拍照,用Image Pro Plus 5.0图像分析系统以5个视野阳性表达的平均吸光度值[absorbance(A) value]表示neurtin蛋白表达水平。

1.2.6 ELISA检测大鼠滑膜组织炎症因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平:取1.2.4中液氮中保存的滑膜组织4 $^{\circ}$ C解冻后,冰上匀浆、分离后取上清液,按ELISA试剂盒说明书方法检测IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平。

1.2.7 Western blot检测TLR4、NF- $\kappa$ B p65、p-NF- $\kappa$ B p65、OPN、ADAM4蛋白表达:取组织上清液,用蛋白提取试剂盒轴提蛋白后,BCA法测蛋白浓度,取30 $\mu$ g蛋白行电泳、转膜反应,加入抗体[TLR4、p-NF- $\kappa$ B p65、OPN、ADAM4(1:100) $\beta$ -actin(内参)1:2000]4 $^{\circ}$ C孵育过夜,加入1:1000的羊抗兔二抗,室温孵育2h,增强化学发光法显色,以化学发光成像仪观察条带并拍照,Image-J软件分析蛋白表达。

### 1.3 统计学分析

SPSS22.0软件统计数据,均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示数据,组间比较进行单因素方差分析,进一步两组间比较行LSD- $t$ 检验。

## 2 结果

### 2.1 KT对大鼠膝关节肿胀程度、自发疼痛行为步态评分及热刺激撤足痛阈值的影响

对照组大鼠膝关节及活动步态行为正常;与对

照组相比,模型组大鼠膝关节红肿,活动较少,行走步态不协调,自发疼痛行为步态评分升高,热刺激撤足痛阈值降低( $P<0.05$ );与模型组相比,KT低、高剂量组及TAK-242组关节红肿、行走步态不协调行为缓解,自发疼痛行为步态评分降低,热刺激撤足痛阈值升高( $P<0.05$ )(表1)。

表1 自发疼痛行为步态评分及热刺激撤足痛阈值比较  
Table 1 Comparison of spontaneous pain behavior gait score and thermal stimulation foot pain threshold( $\bar{x}\pm s$   $n=10$ )

group	behavioral gait score(score)	hppt/s
control	0.00 $\pm$ 0.00	18.2 $\pm$ 0.2
model	3.99 $\pm$ 0.21*	5.7 $\pm$ 0.2*
KT low-dose	2.68 $\pm$ 0.20 <sup>#</sup>	7.7 $\pm$ 0.2 <sup>#</sup>
KT high-dose	0.95 $\pm$ 0.18 <sup>#</sup>	12.3 $\pm$ 0.2 <sup>#</sup>
TAK-242	0.91 $\pm$ 0.19 <sup>#</sup>	12.3 $\pm$ 0.2 <sup>#</sup>

\* $P<0.05$  compared with control; <sup>#</sup> $P<0.05$  compared with model.

### 2.2 KT对大鼠滑膜组织病理形态的影响

对照组大鼠滑膜组织正常,未见明显炎症损伤。模型组大鼠HE染色可见滑膜组织充血肿胀、肥厚粗糙,滑膜细胞增生呈多层且排列不整齐,毛细血管丰富及炎症细胞浸润明显;马森染色可见纤维组织增生严重。与模型组相比,KT低、高剂量组及TAK-242组大鼠滑膜组织肥厚、炎症细胞浸润及纤维组织增生等病理现象均不同程度减轻。其中KT高剂量组优于低剂量组,KT高剂量组与TAK-242组病理损伤相近(图1)。

### 2.3 KT对大鼠滑膜组织中neurtin蛋白表达的影响

与对照组相比,模型组大鼠滑膜组织neurtin蛋白表达增高( $P<0.05$ );与模型组相比,KT低、高剂量组及TAK-242组大鼠滑膜Neurtin蛋白表达降低( $P<0.05$ )(图2表2)。

### 2.4 KT对大鼠滑膜组织IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平的影响

对照组相比,KOA组大鼠滑膜组织IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平均升高( $P<0.05$ );与KOA组相比,KT低、高剂量组及TAK-242组大鼠滑膜组织IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平降低( $P<0.05$ )(表3)。

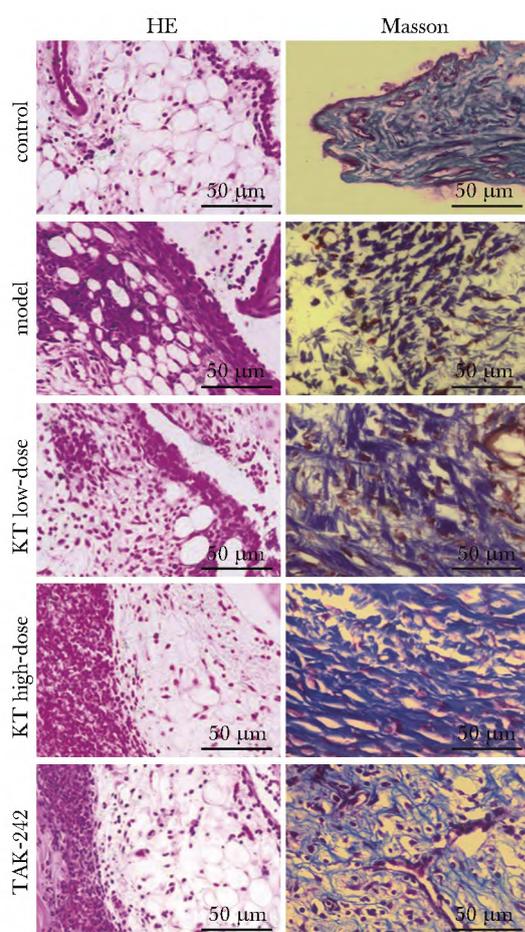


图1 大鼠滑膜组织病理损伤

Fig 1 Pathological damage of synovium in rats (HE  $\times 400$ )

表2 各组大鼠 Neurtin 蛋白表达结果比较

Table 2 Comparison of the expression results of neurtin protein in each group( $\bar{x}\pm s$  A value  $n=10$ )

group	neurtin
control	0.25 $\pm$ 0.19
model	1.62 $\pm$ 0.21*
KT low-dose	1.26 $\pm$ 0.20#
KT high-dose	0.55 $\pm$ 0.18#
TAK-242	0.56 $\pm$ 0.15#

\* $P<0.05$  compared with control; # $P<0.05$  compared with model.表3 大鼠滑膜组织 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平比较Table 3 Comparison of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  levels in rat synovial tissue( $\bar{x}\pm s$  pg/g  $n=10$ )

group	IL-1 $\beta$	TNF- $\alpha$
control	298 $\pm$ 30	161 $\pm$ 32
model	700 $\pm$ 35*	487 $\pm$ 39*
KT low-dose	607 $\pm$ 46#	407 $\pm$ 37#
KT high-dose	414 $\pm$ 43#	252 $\pm$ 34#
TAK-242	412 $\pm$ 41#	256 $\pm$ 35#

\* $P<0.05$  compared with control; # $P<0.05$  compared with model.

## 2.5 KT 对大鼠 TLR4、p-NF- $\kappa$ B p65、NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达的影响

对照组相比,模型组大鼠滑膜组织 TLR4、p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达升高( $P<0.05$ );与模型组相比,KT 低、高剂量组及 TAK-242 组大鼠

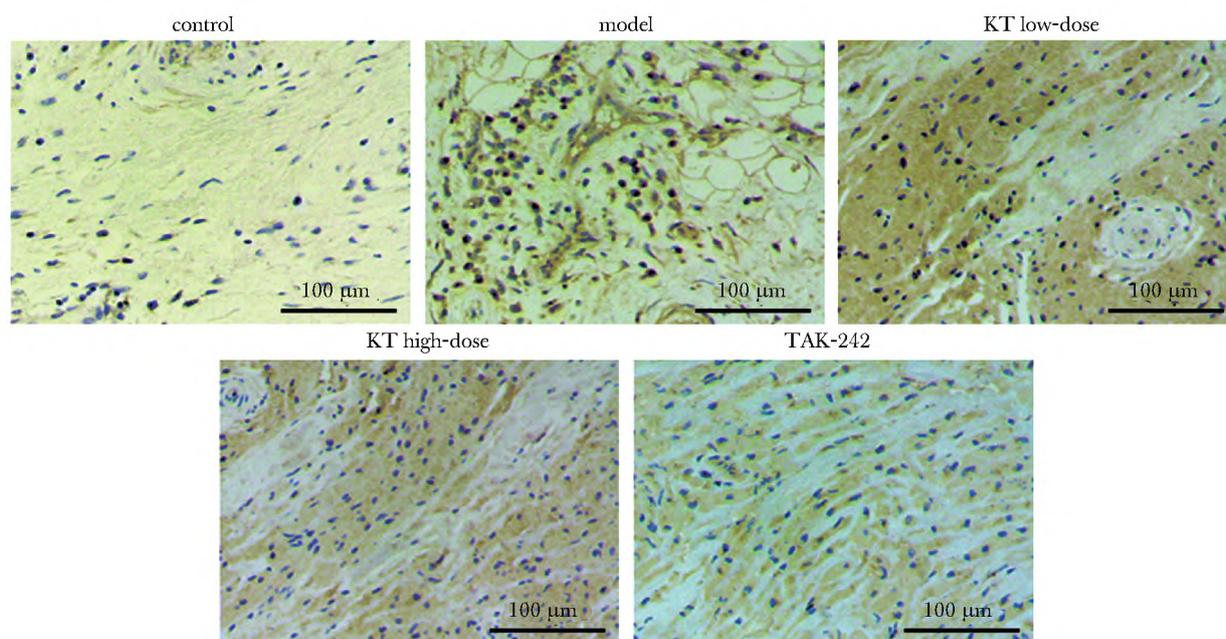
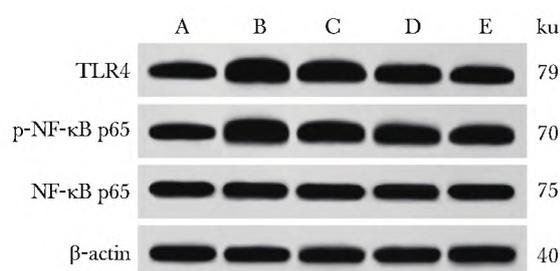


图2 大鼠滑膜组织免疫组化图

Fig 2 Immunohistochemical results of rat synovium(SP  $\times 200$ )

滑膜组织 TLR4、p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达降低( $P < 0.05$ ) (图3 表4)。



A. control; B. model; C. KT low-dose; D. KT high-dose; E. TAK-242

图3 免疫印迹法检测大鼠滑膜组织 TLR4、p-NF- $\kappa$ B p65、NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达

Fig 3 Western blot of TLR4、p-NF- $\kappa$ B p65 and NF- $\kappa$ B p65 protein expression

表4 大鼠滑膜组织 TLR4、p-NF- $\kappa$ B p65/NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达水平

Table 4 Expression level of TLR4 and NF- $\kappa$ B p65 protein in synovium of rats ( $\bar{x} \pm s$   $n=10$ )

group	TLR4/ $\beta$ -actin	NF- $\kappa$ B p65/ $\beta$ -actin
control	1.06 $\pm$ 0.08	1.01 $\pm$ 0.09
model	1.93 $\pm$ 0.15*	1.89 $\pm$ 0.13*
KT low-dose	1.63 $\pm$ 0.13#	1.58 $\pm$ 0.10#
KT high-dose	1.34 $\pm$ 0.10 $^{\Delta}$	1.22 $\pm$ 0.12 $^{\Delta}$
TAK-242	1.31 $\pm$ 0.11 $^{\Delta}$	1.21 $\pm$ 0.13 $^{\Delta}$

\* $P < 0.05$  compared with control; # $P < 0.05$  compared with model;

$^{\Delta}P < 0.05$  compared with KT low-dose.

## 2.6 KT 对大鼠 OPN、ADAM4 蛋白表达的影响

对照组相比,模型组大鼠滑膜组织 OPN、ADAM4 蛋白表达升高( $P < 0.05$ );与模型组相比,KT 低、高剂量组及 TAK-242 组大鼠滑膜组织 OPN、ADAM4 蛋白表达降低( $P < 0.05$ ) (图4 表5)。

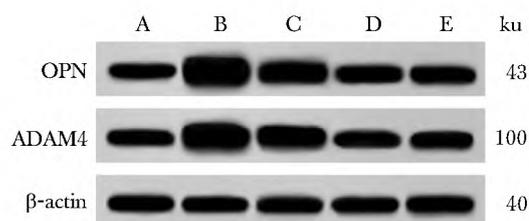
表5 大鼠滑膜组织 OPN、ADAM4 蛋白表达水平

Table 5 Expression level of OPN and ADAM4 protein in synovium of rats ( $\bar{x} \pm s$   $n=10$ )

group	OPN/ $\beta$ -actin	ADAM4/ $\beta$ -actin
control	0.96 $\pm$ 0.09	0.99 $\pm$ 0.08
model	1.90 $\pm$ 0.15*	1.84 $\pm$ 0.13*
KT low-dose	1.63 $\pm$ 0.13#	1.49 $\pm$ 0.12#
KT high-dose	1.38 $\pm$ 0.10 $^{\Delta}$	1.12 $\pm$ 0.06 $^{\Delta}$
TAK-242	1.39 $\pm$ 0.11 $^{\Delta}$	1.11 $\pm$ 0.03 $^{\Delta}$

\* $P < 0.05$  compared with control; # $P < 0.05$  compared with model;

$^{\Delta}P < 0.05$  compared with KT low-dose.



A. control; B. model; C. KT low-dose; D. KT high-dose; E. TAK-242

图4 免疫印迹法检测大鼠滑膜组织 OPN、ADAM4 蛋白表达

Fig 4 Western blot of OPN and ADAM4 protein expression

## 3 讨论

KOA 过程中,滑膜细胞及滑膜成纤维细胞活化,可分泌炎症细胞因子,如 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等,来进一步促进滑膜炎性反应,引起关节结构损伤<sup>[10]</sup>。神经营养因子 neuritin 可间接反映疼痛程度,并参与 KOA 疼痛过程<sup>[11]</sup>。本研究发现,模型大鼠关节肿胀、活动受限、滑膜组织炎症细胞浸润及纤维组织增生等 KOA 病理症状严重,并伴随着自发疼痛行为步态评分升高、热痛阈值降低、滑膜组织 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平及疼痛相关指标 neuritin 表达升高,提示大鼠 KOA 造模成功。

KT 是一种非甾体类抗炎药物,可用于各种疼痛的治疗<sup>[4]</sup>,但 KT 却在 KOA 中应用较少。本研究发现,KT 剂量越高,大鼠 KOA 病理症状缓解越明显,滑膜组织炎症指标及疼痛相关指标表达降低越明显,这与报道,肌肉注射 KT 药物,可缓解关节置换术患者术后疼痛及炎症应激状态相一致<sup>[12]</sup>,提示 KT 也可用于 KOA 炎症反应及疼痛症状的缓解治疗。

TLR4/NF- $\kappa$ B 通路是主要的炎症调控通路<sup>[13]</sup>,也是参与 KOA 滑膜炎性反应、滑膜细胞及滑膜成纤维细胞增生病变的关键通路。NF- $\kappa$ B 通路激活可介导 OPN 表达,促进滑膜成纤维细胞炎症反应及增殖,可能是关节炎患者滑膜炎性增生及病变的关键原因<sup>[14]</sup>。NF- $\kappa$ B 及炎症因子可触发 TLR4 炎症反应激活,并调控 IL-1 $\beta$  炎症因子及 ADAM4 表达来促进滑膜增生及侵袭<sup>[15]</sup>。本研究发现,模型组大鼠滑膜组织 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路及相关蛋白 OPN 及 ADAM4

蛋白表达均异常增高,用 TAK-242 阻断 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路激活后,大鼠 KOA 疼痛及滑膜炎性损伤缓解明显。而 KT 剂量越高,TLR4/NF- $\kappa$ B 通路抑制效果越显著,且 KT 高剂量组对 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路及 KOA 症状的抑制效果,与 TAK-242 组相近,提示 KT 药物缓解 KOA 大鼠滑膜炎性反应及疼痛症状,可能与阻断 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路激活有关。

综上所述,KT 可缓解 KOA 大鼠滑膜炎性反应及疼痛症状,且其缓解作用可能与阻断 TLR4/NF- $\kappa$ B 通路激活有关。这为 KT 在 KOA 领域的应用提供一定参考。但 KOA 病理过程较为复杂,还涉及免疫、自噬、氧化应激等多种生理反应,KT 改善 KOA 症状的其他机制,有待继续研究。

#### 参考文献:

- [1] Koyama K, Ohba T, Odate T *et al.* Pathological features of established osteoarthritis with hydrarthrosis are similar to rheumatoid arthritis [J]. *Clin Rheumatol*, 2020, 8: 5453-5461.
- [2] 郑洁,王瑞辉,寇久社,等.青藤碱下调兔膝关节滑膜脂肪因子受体的表达[J].*基础医学与临床*, 2016, 36: 107-108.
- [3] Zhang Y, Zeng Y. Curcumin reduces inflammation in knee osteoarthritis rats through blocking TLR4 /MyD88/NF- $\kappa$ B signal pathway [J]. *Drug Dev Res* 2019, 80: 353-359.
- [4] Orasugh JT, Dutta S, Das D, *et al.* Sustained release of ketorolac tromethamine from poloxamer 407/cellulose nanofibrils graft nanocollagen based ophthalmic formulations [J]. *Int J Biol Macromol* 2019, 140: 441-453.
- [5] 丁超,梁立源,谭杜勋,等.布托啡诺联合酮咯酸氨丁三醇在急诊骨科创伤早期镇痛中的临床应用[J].*中国实用医药* 2018, 13: 132-133.
- [6] 陈俊,林洁,赵志胜,等.乌头汤对膝关节炎模型大鼠滑膜组织 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路的影响[J].*中国组织工程研究* 2019, 23: 4381-4386.
- [7] 常永丽,许银红,温雪敏,等.地佐辛复合酮咯酸氨丁三醇超前镇痛对大鼠术后痛阈和炎性反应的影响[J].*中国临床药理学与治疗学* 2017, 22: 267-271.
- [8] 张怡敏,叶峥嵘,周雪宁,等.抑制 Toll 样受体 4/核因子  $\kappa$ B (TLR4/NF- $\kappa$ B) 通路加重鲍曼不动杆菌感染大鼠的炎症[J].*细胞与分子免疫学杂志* 2018, 34: 395-400.
- [9] 马文俊,梁英.A 型肉毒毒素对膝骨性关节炎大鼠模型镇痛效果及机制的实验研究[J].*中国康复医学杂志*, 2017, 32: 640-653.
- [10] Wang H, Hu Y, Xie Y *et al.* Prediction of microRNA and gene target in synovium-associated pain of knee osteoarthritis based on canonical correlation analysis [J]. *Biomed Res Int* 2019, 13: 456-476.
- [11] Liu Q, Zhang H, Xu J *et al.* Neuritin provides neuroprotection against experimental traumatic brain injury in rats [J]. *Int J Neurosci* 2018, 128: 811-820.
- [12] 郭淑玲,侯世倬.酮咯酸氨丁三醇超前镇痛对膝关节炎关节置换患者炎性因子及应激状态的影响[J].*中国生化药物杂志* 2017, 37: 325-326.
- [13] 宋晓琦,刘玮,刘硕,等.LPS 触发的 TLR4 对 NF- $\kappa$ B 和 IRF3 信号通路的调控差异[J].*基础医学与临床*, 2017, 37: 1363-1367.
- [14] 葛介臣,徐迈,戴世友,等.经 NF- $\kappa$ B 通路调节骨桥蛋白表达对骨关节炎滑膜细胞炎症影响[J].*青岛大学学报(医学版)* 2018, 54: 325-329.
- [15] 王学宗,丁道芳,薛艳,等.TLR4/NF- $\kappa$ B 通路参与大鼠膝骨关节炎滑膜早期病变的研究[J].*中国骨伤* 2019, 32: 68-71.