

针刺不同敏化状态穴位对 KOA 模型大鼠的关节软骨形态和关节腔液炎症因子的作用

郑倩华¹ 吴强¹ 蒋一璐¹ 任润媛² 张薇¹ 蔡定均¹ 梁繁荣^{1*}

(1. 成都中医药大学针灸推拿学院/第三附属医院 四川 成都 610075;

2. 成都中医药大学基础医学院 四川 成都 610075)

摘要:目的 研究针刺不同敏化状态穴位对膝骨性关节炎(KOA)大鼠关节软骨的修复及关节腔液炎症因子的调控作用。方法 将成年雄性SD大鼠56只以1:3的比例随机分为空白对照组和KOA造模组。造模组采用单碘乙酸盐(Mono-iodoacetic acid, MIA)关节腔内注射法制备KOA模型。采用Von Frey检测临床治疗KOA常用腧穴的机械痛阈值。根据造模前后痛阈值的变化率,筛选具有双向变化的穴位,将该穴痛阈值增高的大鼠分为低敏化组,而降低的分为高敏化组,而痛阈值无明显变化的为模型组。敏化组均接受2周的针刺治疗。观察各组大鼠膝关节周径、行为学评分、关节软骨组织形态学、ELISA检测关节腔冲洗液IL-6、TNF- α 和chemerin水平,Western blot检测关节软骨ChemR23蛋白表达水平。结果 与空白对照组比较,模型组大鼠关节周径、Lequesne MG评分、关节软骨Mankin's评分、关节腔冲洗液IL-6、TNF- α 和chemerin水平均显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,高、低敏化组大鼠关节软骨Mankin's评分、关节腔冲洗液IL-6、chemerin水平显著下降($P < 0.05$);与低敏化组比较,高敏化组大鼠关节周径、Lequesne MG总分、Mankin's评分均明显降低,关节腔冲洗液IL-6水平明显下降($P < 0.05$)。结论 针刺KOA疾病状态下不同敏化状态的穴位均可改善大鼠行为学表现、促进软骨修复、抑制关节局部部分炎症反应,而针刺高敏化状态穴位的疗效优势还需要进一步验证。

关键词: 膝骨性关节炎; 穴位敏化; 机械痛阈; 针刺; 炎症因子

DOI标识: doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2020.04.068

中图分类号: R245.3; R274.32 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805(2020)04-0982-04

Acupuncture at Different Sensitized Acupoints on Cartilage Morphology and Inflammatory Factor in Rats with Knee Osteoarthritis

ZHENG Qian-hua¹, WU Qiang¹, JIANG Yi-lu¹, REN Run-yuan², ZHANG Wei¹, CAI Ding-jun¹, LIANG Fan-rong^{1*}

(1. School of Acupuncture and Moxibustion/3rd Teaching Hospital, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan 610075, China; 2. School of Basic Medical Sciences, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu Sichuan 610075, China)

Abstract: Objective To investigate acupuncture at the different sensitized acupoints to repair the cartilage and regulate the levels of inflammatory factors in the articular cavity of rats with knee osteoarthritis (KOA). **Methods** Fifty-six male SD rats were randomly divided into the Control group and KOA-modeling group in a 1:3 ratio. KOA model was made by the Mono-iodoacetic acid (MIA) injecting into the articular cavity. Values of the mechanical pain threshold were measured by Von Frey at acupoints which are widely applied for treating KOA in clinical practice. According to the change rates of the values, we divided the rats with increasing ones into the Low-sensitized group, with decreasing ones into the High-sensitized group, and with non-changing ones into the Model group. The sensitized groups received 2-week electro-acupuncture treatment. Circumference of knee joints, Lequesne MG knee joint evaluation, HE staining for cartilage morphological changes, ELISA method to determine the levels of IL-6, TNF- α and chemerin, Western blot to detect the ChemR23 protein expression level were evaluated. **Results** Compared to the Control group, there were significant increase of the circumference of knee joints, Lequesne MG and Mankin's scores, level of IL-6, TNF- α and chemerin in the articular cavity ($P < 0.05$). Compared to the Modeling group, acupuncture on the low-sensitized and high-sensitized points significantly decrease the scores of Lequesne MG and Mankin's, level of IL-6 and chemerin. Compared to the Low-sensitized group, the significant differences were observed on the circumference, total scores of Lequesne MG and Mankin's, level of IL-6. **Conclusion** Acupuncture on the different sensitized acupoints of rats with KOA can improve the cartilage repairment, control the inflammatory reaction in knee joint. However, further investigates on the advantage of puncturing on the high sensitized are needed.

Keywords: Knee osteoarthritis; Sensitized acupoints; Mechanical pain threshold; Acupuncture; Inflammatory factors

收稿日期: 2019-05-27; 修订日期: 2020-01-02

基金项目: 国家自然科学基金(81590950); 四川省科技厅应用基础研究项目(2019YJ0330); 成都中医药大学校基金(ZRQN1796)

作者简介: 郑倩华(1984-),女(汉族),四川成都人,成都中医药大学讲师,博士学位,主要从事穴位敏化的临床与基础研究工作。

* 通讯作者简介: 梁繁荣(1956-),男(汉族),湖南安化人,成都中医药大学教授,博士研究生导师,硕士学位,主要从事经穴效应特异性的临床与基础研究工作。

膝骨关节炎(Knee Osteoarthritis, KOA)是临床中最常见的一类骨性关节炎,主要是以膝关节软骨慢性炎症和进行性退化为的一类疾病,以膝关节疼痛、活动受限为主要的临床表现,严重降低了患者的生活质量,同时增加了社会的卫生医疗负担^[1]。现代研究表明针灸可安全有效的缓解关节疼痛、关节僵硬症状^[2,3]。临床常选用患侧膝关节局部的经穴和经外奇穴作为针刺点,而以疼痛为表现的阿是穴也是针灸治疗该病的重要刺激部位^[4]。在前期的研究中发现,课题组发现 KOA 患者在膝关节局部的经穴及经外奇穴会出现痛阈值改变的穴位敏化现象^[5,6]。根据针灸“以痛为腧”的理论,针刺不同痛阈状态的穴位,是否可以发挥不同的治疗效果,还有待进一步研究。本研究采用单碘乙酸(Monoiodoacetic acid, MIA) 关节腔注射法构建 SD 大鼠 KOA 模型,采用 Von frey 检测大鼠穴位痛阈值判断穴位敏化状态,观察针刺高敏状态穴位和低敏状态穴位对 KOA 大鼠的治疗作用及关节的抗炎作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 本实验选用清洁级 SD 雄性大鼠 56 只,12 周龄,体重(400±50)g,购于成都达硕实验有限公司,动物生产许可证号为 SCXK(川)2015-030。购回后饲养于成都中医药大学针灸推拿学院实验针灸实验室,适应性喂养 2 周。实验室温度为 20~25℃,12:12h 光照周期,相对湿度 40%~60%。适应性饲养及实验期间,大鼠自由进食饮水,食物投喂时间为每日 8:00Am。采用随机数字表按照 1:3 的比例分成健康对照组 14 只和 KOA 造模组 42 只。

1.2 主要试剂和仪器 全自动封闭式组织脱水机(型号 TSJ-II,常州市中威电子仪器有限公司);转轮式切片机,(徕卡 RM2245,德国 LEICA 公司);显微镜,(徕卡 DM2500,德国 LEICA 公司);Electric Von Frey 电子测痛仪,(美国 ITC Life Science Inc)。单碘乙酸(Monoiodoacetic acid, MIA,美国 Sigma-Aldrich 公司,货号: I4386)。水合三氯乙醛(百灵威科技有限公司 J&K Scientific LTD,货号: SJ0038F584493);4% 多聚甲醛固定液(国药集团化学试剂有限公司,货号: 20180112);PBS 磷酸盐缓冲液(北京中杉金桥生物技术有限公司,货号: ZLI-9062);70%、80%、90% 乙醇溶液,(江苏海兴化工有限公司,货号: GB678-90);苏木素染液、伊红染液(珠海贝索生物技术有限公司,货号 BA-4097),BA-4099;IL-6、TNF- α 和他扎罗汀诱导基因 2(Tazarotene-induced gene-2, TIG2) 或视黄醇受体反应蛋白 2 即 chemerin 的 ELISA 试剂盒均购于上海茁彩生物科技有限公司;趋化因子受体 1(chemerin chemokine-like receptor 1, CMKLR1) 即 ChemR23 兔多克隆抗体、山羊抗鼠 IgG、山羊抗兔 IgG 均购于英国 Abcam 艾博抗(上海)贸易有限公司。规格 $\Phi 0.25\text{mm} \times 13\text{mm}$ 华佗牌一次性针灸针,(苏州医疗用品厂有限公司);电针治疗仪型号 SDZ-II(苏州医疗用品厂有限公司)。

1.3 KOA 大鼠模型的建立 根据文献^[7]及课题组前期的研究,采用 MIA 关节腔内注射进行 KOA 模型的制备。方法如下:大鼠在禁食不禁水 12h 后,采用 5% 水合氯醛(0.8mL/100g)腹腔注射进行麻醉。将 KOA 造模组大鼠左膝关节屈曲到最大限度后于腔内注射 3mg/5 μl MIA 溶液,空白对照组大鼠用同样方法于左侧膝关节注射 9% 生理盐水 50 μl 。关节腔注射 MIA 后第 14 天,采用随机数字表随机从空白对照组和 KOA 造模组大鼠中随机抽取 2 只、6 只大鼠,进行行为学评价,并在处死后对左膝关节软骨进行病理学检测,确定造模成功。

1.4 检测与敏化状态的判定 根据课题组前期对 KOA 穴位敏化现象的临床观察研究^[5,6],本实验选择大鼠左膝关节局部梁丘、血海、鹤顶、内膝眼、犊鼻、阴陵泉、阳陵泉、足三里,及同侧下肢三阴交、悬钟、太冲、腰部双侧肾俞穴进行敏化检测。取穴参考《实验针灸学》大鼠腧穴定位^[8],并在检测前 24h 将大鼠待测穴位皮

肤剃毛并标记,于上午 9:00-12:00,在室温、湿度恒定,环境安静,光线柔和的情况下,采用电子测痛仪对穴位进行机械压痛阈的测定。方法如下:在自制鼠台上固定大鼠后,将探针垂直且均匀缓慢下压测定穴位,待大鼠出现动须、伸足、缩足、抽搐、甩尾、嘶叫等反应时迅速移开探针,并读取显示屏数值。每穴每次共检测 3 次,每次检测间隔 2min。穴位痛阈值取 3 次平均值。大鼠分别在造模前、造模后、针刺结束时进行机械痛阈值的测定。

采用痛阈值变化率作为大鼠穴位敏化状态的判定,即痛阈值变化率(%)=(造模后痛阈值-造模前痛阈值)/造模前痛阈值。计算出所有经穴的变化率后,较造模前痛阈值降低的为高敏化穴位,而增高的为低敏化穴位。所有的穴位按照痛阈值降低或增加的变化率大小进行排序,以痛阈值降低或增加幅度进行排序,找出高敏化和低敏化的穴位。

1.5 实验动物分组 根据“1.4”判定实验动物经穴的敏化状态,选择机械痛阈值即可降低亦可升高,即造模后痛阈值具有双向性变化的腧穴为分组依据。将该穴位机械痛阈值降低的大鼠归为高敏穴组,而痛阈值增高的大鼠归为低敏穴组,而痛阈值变化幅度不明显的大鼠归为模型组。

造模后 KOA 造模组大鼠穴位痛阈值从造模前降低变化幅度最大是阴陵泉(36.4%)、三阴交(33.3%)、足三里(33.3%)、内膝眼(30.3%)、梁丘(30.3%)、血海(30.3%)、犊鼻(30.3%)和鹤顶(27.3%),而升高变化幅度最大是右肾俞(51.5%)、太冲(39.4%)、左肾俞(33.3%)和鹤顶(27.3%)。其中,被测鹤顶穴的机械痛阈值变化率既有降低又有增加,分别排列第 5 和第 4,故选择病变侧鹤顶为针刺干预腧穴。以鹤顶穴变化率增加大鼠分为低敏穴组,而降低大鼠为高敏穴组,其余变化不明显的为模型组。

1.6 干预措施 高敏穴组和低敏穴组大鼠在每日固定时间仰卧束缚在自制鼠台上,保证其下肢完全暴露,针刺部分备皮后常规消毒,采用 0.25mm \times 13mm 毫针垂直刺入,深度约 5mm,微微捻转后在鹤顶直上 0.5cm 处针刺一针,深度约 3mm,接电针仪正负极,采用连续波,频率 2Hz,留针 20min,强度以肢体轻微抖动而针体不脱落为度。每天治疗 1 次,连续治疗 5 天为 1 个疗程,共治疗 2 个疗程,疗程间休息 2 天。空白对照组和模型组每天以同样方法抓握及固定相同时间,但不接受任何针灸治疗。

1.7 观察指标

1.7.1 关节肿胀度及行为学评价 测量大鼠膝关节周径,采用 Lequesne MG 评分表对所有大鼠的疼痛反应、步态、关节活动度、关节肿胀程度进行评价^[9]。在造模前、造模后和针刺治疗后进行评价。

1.7.2 膝关节组织学观察 针刺治疗结束后第 2 天,各组大鼠于处死后切开关节,分离上下关节面,剥离肌肉韧带组织后先肉眼观察关节面软骨情况,再取胫骨平台上端 1cm 的骨及软骨组织置于 4% 多聚甲醛固定液中固定,进行 HE 染色,在光镜下进行关节软骨病理学检测,采用 Markin 评分^[10]。

1.7.3 膝关节炎性水平检测 针刺治疗结束后第 2 天,处死各组大鼠后,在膝关节正面过髌韧带中点行“一”形切口打开关节,注射器吸取 300 μl 生理盐水冲洗左膝关节,并收集至少 150 μl 关节腔冲洗液,保存于 -80℃ 后行 ELISA 法检测膝关节液中 IL-6、TNF- α 和 chemerin 浓度水平。剥离关节软骨层后液氮冻存,采用 Western blot 检测关节软骨 chemerin 受体 ChemR23 蛋白表达。水域解冻后剪碎软骨组织,加入 RIPA 裂解液裂解后离心采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度,按步骤对目标蛋白进行上样和电泳,60min 后进行转膜和封闭操作,将一抗(ChemR23 1:500; β -actin 1:5000)加入其中,并在 4℃ 进行孵育过夜后用 TBST 冲洗 3 次,每次 10min;再加入(二抗稀释浓度 1:5000)室

温孵育 3h,用 TBST 冲洗 3 次,每次 10min。最后对目标蛋白进行曝光,采用凝胶成像分析系统扫描并计算目标条带灰度值。

1.8 统计学方法 采用 SPSS21.0 软件对实验数据进行统计学分析。首先对数据进行正态性分析,符合正态分布的数据采用 $\bar{x} \pm s$,非正态分布采用中位数 (P25, P75)。正态分布数据采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法,方差不齐采用 Dunnett's T3 法。如不符合正态分布数据采用非参数检验。以 $P < 0.05$ 作为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 与空白对照组比较,模型组、高敏穴和低敏穴组大鼠体重明显下降,饮食减少,活动量减少,易激惹,打架撕咬增多。左膝关节肿大,活动欠佳,跛行明显。

2.2 关节周径和行为学评价 如表 1 所示,与空白对照组比较,模型组、低敏穴组大鼠关节周径明显增加 ($P < 0.05$);与模型组、低敏穴组比较,高敏穴组大鼠关节周径明显缩小 ($P < 0.05$)。如表 2 所示,与空白对照组比较,模型组、高敏穴和低敏穴组大鼠 Lequesne MG 评分的总分、疼痛刺激反应、步态和关节肿胀均增高 ($P < 0.05$);与模型组比较,低敏穴组和高敏穴组大鼠 Lequesne MG 总分及其他维度得分均明显下降 ($P < 0.05$),但高敏穴组大鼠在总分及疼痛刺激反应两个部分得分较低敏穴组更低 ($P < 0.05$)。

2.3 关节软骨组织学观察及 Mankin's 评分

2.3.1 关节软骨组织学观察 如图 1 所示,空白对照组左膝关节软骨表面光滑,细胞排列规则,层次有序,分布正常,潮线清晰。模型组大鼠软骨表面粗糙,软骨层变薄,软骨细胞减少,排列紊乱,软骨浅层裂隙形成,滑膜细胞明显增生,下层可见不同程度的纤维组织增生和炎性细胞浸润,潮线漂移。低敏穴组大鼠关节软骨结构完整,软骨下骨结构清晰,软骨表层缺损较粗糙,细胞数量减少,排列紊乱,形成少量浅层裂隙,裂隙最深可到达移行层,偶见骨层发生轻微软骨化。高敏穴组大鼠关节软骨结构完整,骨层结构清晰,软骨表层受到不同程度的破坏,粗糙不整,偶见形成少量浅层裂隙到达移行层。

2.3.2 关节软骨 Mankin's 评分 如表 1 中大鼠关节组织 Mankin's 评分显示,与空白对照组比较,模型组、高敏穴和低敏穴组大鼠评分均明显增高 ($P < 0.05$);与模型组比较,低敏穴组和高敏穴组评分均明显降低 ($P < 0.05$);高敏穴组评分低于低敏穴组评分 ($P < 0.05$)。

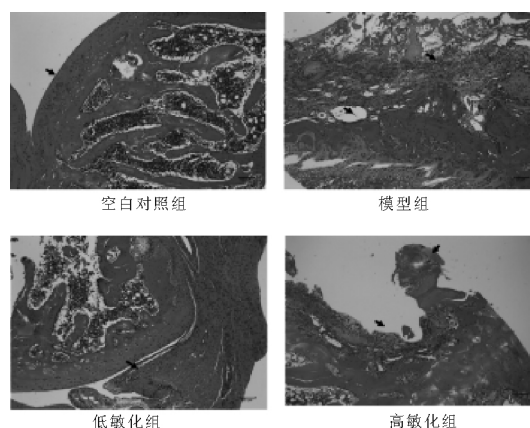


图 1 各组关节软骨光镜观察图 (HE 染色 100 ×)

2.4 ELISA 检测大鼠关节腔冲洗液 IL-6、TNF-α 和 chemerin 的水平 如表 3 所示,与空白对照组比较,模型组、低敏穴组和高敏穴组大鼠关节腔冲洗液中 IL-6、TNF-α 和 chemerin 的水平均明显升高,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。与模型组比较,低敏穴组和高敏穴组大鼠关节腔冲洗液中 IL-6 和 chemerin 水平均有降低,其中高敏穴组关节腔冲洗液 IL-6 水平可恢复正常水平,与空白对照组差异无统计学意义 ($P > 0.05$);低敏穴组和高敏穴组关节腔冲洗液 chemerin 水平恢复正常,与空白对照组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与模型组比较,低敏穴组关节腔冲洗液中 TNF-α 水平升高,而高敏穴组水平降低,但均无统计学差异 ($P > 0.05$)。

2.5 Western blot 检测关节软骨 ChemR23 的蛋白表达 如图 2 和表 3 所示,空白组、模型组、低敏穴组和高敏穴组大鼠软骨 ChemR23 蛋白表达量比较无统计学差异 ($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠关节周径和 Mankin's 评分 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	关节周径/cm	Mankin's 评分
空白对照组	9	13.12 ± 0.51	1.22 ± 0.97
模型组	9	14.33 ± 0.40 **	10.33 ± 1.00 **
低敏化组	8	14.07 ± 0.27 **	7.63 ± 1.06 ***##
高敏化组	9	13.31 ± 0.68 ##Δ	6.33 ± 1.32 ***##Δ

与空白对照组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ## $P < 0.01$; 与低敏化组比较, Δ $P < 0.05$

表 2 各组大鼠 Lequesne MG 评分 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	总分	疼痛刺激反应	步态	关节活动	关节肿胀
空白对照组	9	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
模型组	9	4.83 ± 0.94 **	1.61 ± 0.42 **	1.17 ± 0.25 **	0.67 ± 0.43 **	1.39 ± 0.49 **
低敏化组	8	1.88 ± 0.35 ***##	0.88 ± 0.23 ***##	0.31 ± 0.26 *##	0.18 ± 0.26 #	0.50 ± 0.38 *##
高敏化组	9	1.33 ± 0.35 ***##Δ	0.33 ± 0.25 *##Δ	0.22 ± 0.26 *##	0.22 ± 0.26 #	0.56 ± 0.30 *##

与空白对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与低敏化组比较, Δ $P < 0.05$

表 3 各组大鼠关节腔冲洗液炎症分子水平及软骨 ChemR23 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-6/pg · mL ⁻¹	TNF-α/pg · mL ⁻¹	chemerin/pg · mL ⁻¹	ChemR23
空白对照组	9	45.71 ± 1.86	77.28 ± 4.39	191.57 ± 6.90	1.22 ± 0.27
模型组	9	52.94 ± 2.69 **	84.87 ± 5.25 *	211.17 ± 17.57 *	1.65 ± 0.55
低敏化组	8	51.54 ± 3.44 **	86.65 ± 8.51 *	199.69 ± 12.20	1.57 ± 0.54
高敏化组	9	48.71 ± 4.35 ##Δ	83.12 ± 4.82 *	197.40 ± 12.37 #	1.46 ± 0.41

与空白对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与低敏化组比较, Δ $P < 0.05$

3 讨论

从本研究的结果可以看出, MIA 关节腔注射可以获得稳定的 KOA 模型。KOA 大鼠在病损膝关节局部可出现穴位敏化现象,而电针治疗不同敏化状态穴位可有效缓解 KOA 大鼠关节症状及降低关节局部炎症反应水平,而针刺高敏化穴位疗效略优于低敏化穴位,但是两者的治疗优势还有待进一步验证。

KOA 属于中医“痹症”的范畴,是以本虚为主,以肝肾亏虚、精血不足、筋骨失养为主要病因病机,其中伴有风寒湿邪,内生热、痰、瘀等。其病理表现主要是关节骨、软骨的退行性变,以关节软骨缺失、软骨下骨坏死而引起的骨和软骨的修复反应。本研究在造模结束后随机从空白对照组和实验组中随机选取大鼠进行行为学和组织学检测以确定造模成功。

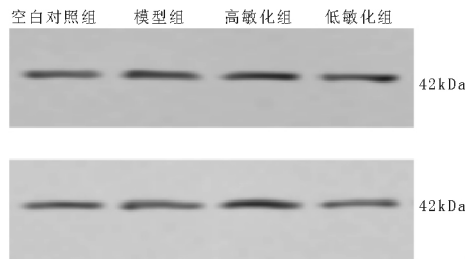


图2 各组大鼠关节软骨 ChemR23 蛋白表达的比较

敏化现象的出现是机体在病理状态下穴位出现的一种“动态”变化。它的发生、存在形式及变化趋势受到多种因素的影响,如机体状态、疾病性质、穴位所在部位、检测方法等。在针灸临床工作中,痛敏作为普遍的一种敏化形式,被广泛的运用于临床相关疾病的诊断和治疗。痛敏的检测包含了指压法及相关仪器检测法。本研究选用了电子机械痛阈测定仪 Von Frey 对实验大鼠穴位的机械痛阈进行检测,其纤维探针可以客观的对小动物皮肤穴位的机械痛阈进行检测,是目前临床及动物研究中被广泛运用的一种检测方法^[11,12]。针灸治疗 KOA 常选用膝关节局部足阳明胃经经穴及经外奇穴作为针刺点。本研究选择 13 个常用腧穴进行机械痛阈值的探测,为针刺穴位的选择提供依据。为了回避不同腧穴解剖定位、所属的神经分布节段,本研究选择同一穴位进行针刺操作。我们选择即可出现机械痛阈降低(高敏化穴),又可出现机械痛阈升高(低敏化穴)的一个穴位——鹤顶穴作为不同敏化状态组别的选穴。鹤顶穴作为针灸临床治疗膝关节病变的重要腧穴之一^[13],同时与健康人对照,在 KOA 患者中表现出穴位温度、机械痛阈、穴位压痛阈的明显改变^[6]。

常见的炎症因子如白介素家族细胞因子中的 IL-1 β 、IL-6 等,TNF- α 在 KOA 的病理进程中有着重要意义。IL-6 在 KOA 发生、发展过程中影响骨细胞的代谢,刺激成骨细胞促进骨赘的形成^[14]。TNF- α 在入软骨细胞损伤及关节局部炎症反应时大量出现,其促进关节软骨下骨基质的降解,趋化白细胞等炎性细胞向关节部移动,促进下游炎症反应的发生,诱导大量炎性因子如 IL-6、IL-8 的释放,进一步加重软骨细胞的破坏^[15,16]。临床发现,KOA 患者血清及关节腔中 IL-6、TNF- α 水平较健康人均明显增高,且与疾病的严重程度相关^[17,18]。在临床研究中发现,针刺可以缓解 KOA 患者膝关节相关临床症状,同时降低患者关节腔液中 IL-6、TNF- α 等炎症分子水平^[19,20]。Chemerin 及其受体 ChemR23 是近年来发现与骨关节炎性反应有关。Chemerin 会增强人软骨细胞和滑膜细胞对促炎因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 TNF- α 的分泌^[21]。在 OA 患者关节腔液中可检测到 chemerin 增高,关节软骨细胞 ChemR23 表达增多,且两者与患者症状严重程度和关节损害程度呈正比^[22]。本研究中,针刺高、低敏化的穴位均能降低关节腔内 IL-6 的浓度水平,且针刺高敏效果更明显;但针刺高、低敏化穴却不能降低腔内 TNF- α 的浓度水平,这可能是由于:第一,本研究采用关节腔冲洗液可能导致关节腔中物质浓度降低;第二,目前相关文献指出针刺能够降低关节腔内 TNF- α 浓度水平,可能与联合治疗有关^[20],本研究中仅采用针刺单一腧穴,是否疗效还不足以调控 TNF- α 水平。

通过本研究分析发现,笔者认为 KOA 大鼠模型在疾病状态下可出现穴位敏化现象,而针刺不同敏化状态穴位可以改善 KOA 动物关节相关症状,降低关节腔冲洗液 IL-6、chemerin 浓度水平,且针刺高敏化穴位发挥的以上作用更明显。但本研究尚未观察到针刺不同敏化状态穴位可以显著降低 TNF- α 水平,对于针刺高敏化穴位或者是低敏化穴位的作用优势仍需进一步验证。

参考文献:

- [1] Neogi T. The epidemiology and impact of pain in osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(9): 1145.
- [2] Vickers A, Cronin A, Maschino A, et al. Acupuncture for chronic pain: individual patient data meta-analysis [J]. *Arch Intern Med*, 2012, 172(19): 1444.
- [3] Lin X, Huang K, Zhu G, et al. The effects of acupuncture on chronic knee pain due to osteoarthritis: a meta-analysis [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2016, 98(18): 1578.
- [4] 陈杨,侯晓丹,银子涵,等.近20年针灸治疗膝骨性关节炎证型用穴特点分析[J].*山西中医*, 2018, 34(10): 47.
- [5] Luo Y, Zhou Y, Zhong X, et al. Observation of pain-sensitive points in patients with knee osteoarthritis: A pilot study [J]. *Eur J Integr Med*, 2018, 21: 77.
- [6] 周玉梅.膝骨关节炎穴位敏化现象的临床观察研究[D].成都中医药大学博士学位论文,2018.
- [7] Guingamp C, Gegout-Pottie P, Philippe L, et al. Mono-iodoacetate-induced experimental osteoarthritis: a dose-response study of loss of mobility, morphology, and biochemistry [J]. *Arthritis Rheum*, 1997, 40(9): 1670.
- [8] 余曙光.实验针灸学[M].北京:人民卫生出版社,2016.
- [9] Lequesne M, Samson M. Indices of severity in osteoarthritis for weight bearing joints [J]. *J Rheumatol Suppl*, 1991, 27: 16.
- [10] Kunnunen J S, Saarakkala S, Hauta-Kasari M, et al. Optical spectral reflectance of human articular cartilage - relationships with tissue structure, composition and mechanical properties [J]. *Biomed Opt Express*, 2011, 2(5): 1394.
- [11] 漆学智,陈李圳,阚宇,等.功能性肠病和肠癌患者的穴位敏化和大小的变化[J].*世界中医药*, 2017, 12(8): 1911.
- [12] 邢贝贝,黄猛,陈国辉,等.穴位敏化现象的实验动物观察[J].*针刺研究*, 2017, 42(4): 327.
- [13] 凌莎莎,李明磊,罗恩文,等.近5年针灸治疗膝骨性关节炎选穴规律的总结分析[J].*中医临床研究*, 2017, 9(6): 57.
- [14] Sakao K, Takahashi K A, Arai Y, et al. Osteoblasts derived from osteophytes produce interleukin-6, interleukin-8, and matrix metalloproteinase-13 in osteoarthritis [J]. *J Bone Miner Metab*, 2009, 27(4): 412.
- [15] Suzuki M, Tetsuka T, Yoshida S, et al. The role of p38 mitogen-activated protein kinase in IL-6 and IL-8 production from the TNF- α - or IL-1 β -stimulated rheumatoid synovial fibroblasts [J]. *FEBS Lett*, 2000, 465(1): 23.
- [16] Aizawa T, Kon T, Einhorn TA, et al. Induction of apoptosis in chondrocytes by tumor necrosis factor- α [J]. *J Orthop Res*, 2001, 19(5): 785.
- [17] Imamura M, Ezquerro F, Marcon Alfieri F, et al. Serum levels of proinflammatory cytokines in painful knee osteoarthritis and sensitization [J]. *Int J Inflam*, 2015, 2015: 329792.
- [18] Zhang S L, Liu H Q, Xu X Z, et al. Effects of exercise therapy on knee joint function and synovial fluid cytokine levels in patients with knee osteoarthritis [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7(1): 183.
- [19] 嵇波,刘清国,符永鏊,等.针刀松解法、电针对膝骨关节炎兔 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量影响的比较[J].*中国病理生理杂志*, 2009, 25(6): 1165.
- [20] 徐小丽,卢新刚,张震,等.针刺对老年膝骨关节炎患者炎症因子表达的影响[J].*老年医学与保健*, 2017, 23(5): 389.
- [21] Berg V, Sveinbjornsson B, Bendixen S, et al. Human articular chondrocytes express ChemR23 and chemerin; ChemR23 promotes inflammatory signalling upon binding the ligand chemerin (21-157) [J]. *Arthritis Res Ther*, 2010, 12(6): R228.
- [22] 段国庆,任春凤.膝骨关节炎严重程度与关节液和血清 chemerin 含量的关系[J].*中国组织工程研究*, 2015, 19(2): 177.