

蚁龙通痹汤对兔膝关节炎 软骨细胞凋亡调控基因表达的影响

王桂芳, 李晓君, 杨栋慧, 张金超*

(河北大学, 河北 保定 071000)

[摘要] **目的:**观察蚁龙通痹汤对兔膝关节炎病理形态及软骨细胞凋亡和凋亡调控基因 Bcl-2 及其抑制基因 Bax 的影响,探讨其治疗骨关节炎可能的作用机制。**方法:**将 40 只日本雄性大耳白兔按体重分为 4 组,即正常组、模型组、蚁龙通痹汤组、葡立胶囊组,每组 10 只。除正常组外,其余各组均行右侧膝关节前交叉韧带切断建立骨关节炎病变模型。造模后第 2 天开始给药(葡立胶囊 $0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 蚁龙通痹汤生药 $0.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 溶于 10 mL 生理盐水中灌胃,每日 1 次),连续 4 周。观察各组兔膝关节软骨及滑膜组织病理形态学改变,测定关节液中肿瘤坏死因子(TNF)- α 和白介素(IL)- 1β 含量,并用 TUNEL 法检测软骨细胞凋亡,分析软骨中凋亡调控基因 Bcl-2 及其抑制基因 Bax 表达情况。**结果:**与正常组比较,模型组动物关节液 IL- 1β 和 TNF- α 含量、软骨细胞凋亡率、Bcl-2、Bax 及 Bcl-2/Bax、关节外在表现和软骨病理组织学均出现明显变化;与模型组比较,蚁龙通痹汤组、葡立胶囊组各项指标均有明显改善,差异有统计学意义($P < 0.05$)。蚁龙通痹汤组、葡立胶囊组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**蚁龙通痹汤能够减少兔膝关节炎关节液 IL- 1β 和 TNF- α 的分泌,显著降低软骨细胞凋亡率,提高 Bcl-2/Bax 而达到对软骨组织保护的作用。

[关键词] 蚁龙通痹汤; 骨关节炎; 软骨细胞凋亡; 调控基因

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0246-05

[doi] 10.11653/syfy2013130246

Effect of Yilong Tongbi Decoction on Chondrocyte Apoptosis Regulatory Gene Expression of Cartilaginous Tissue in the Rabbit with Knee Osteoarthritis

WANG Gui-fang, LI Xiao-jun, YANG Dong-hui, ZHANG Jin-chao*

(Hebei University, Baoding 071000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the improvement effect of Yilong Tongbi decoction on chondrocyte apoptosis regulatory gene expression of cartilaginous tissue on the rabbit models of knee osteoarthritis (KOA), and elucidate its potential mechanism. **Method:** Forty healthy male rabbits were randomly divided into four groups: normal control group, model group, Yilong Tongbi decoction group and glucosamine hydrochloride capsules group. The right knee osteoarthritis model was induced by anterior cruciate ligament transaction except the normal control group. The modeling rabbits were treated by gavage with Yilong Tongbi decoction ($0.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) and glucosamine hydrochloride capsules ($0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) for 4 weeks. The following indexes was observed in all rabbits at experimental endpoint that the ultrastructure changes of arthroal cartilage and synovium including levels of interleukin (IL) - 1β and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in synovial fluid by enzyme linked immunosorbant assay (ELISIA), and the expression of apoptosis in cartilage tissue detected by TUNEL assay, the levels of bcl-2 and bax detected by immunohistochemistry in cartilage tissue. **Result:** Compared with model group, the indexes

[收稿日期] 20130131(006)

[第一作者] 王桂芳, 硕士, 副教授, Tel:0312-5075636, E-mail:wgflzy@sohu.com

[通讯作者] * 张金超, 博士, 教授, 从事抗肿瘤合成药物研究, Tel:0312-5079005, E-mail:jczhang6970@yahoo.com.cn

showed significant improvement in rabbits of Yilong Tongbi decoction and glucosamine hydrochloride capsules group like the ultrastructure changes of arthroal cartilage and synovium, levels of IL-1 β and TNF- α in synovial fluid, cartilage apoptosis rate, the expression of Bcl-2, Bax and Bcl-2/Bax in cartilage tissue. **Conclusion:** Yilong Tongbi decoction can decrease the levels of IL-1 β and TNF- α in synovial fluid, lessen the rate of chondrocyte apoptosis, improve the rate of Bcl-2/Bax, so as to protect cartilaginous tissue in the rabbit with knee osteoarthritis.

[Key words] Yilong Tongbi decoction; osteoarthritis; chondrocyte apoptosis; chondrocyte apoptosis regulatory genes

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种慢性、渐进性、退行性的关节病变,也是一种常见的滑膜关节炎性病变,主要累及关节的负重部位。目前认为关节软骨细胞凋亡是 OA 发生的中心性特征,其对 OA 软骨破坏起着支配性的作用^[1]。因此抑制软骨细胞凋亡成为防治骨性关节炎的重要途径。软骨细胞凋亡的诱导有两个独立的通路,一是一氧化氮(NO)依赖通路,二是 Fas 介导的非 NO 依赖通路,在骨关节炎疾病中 NO 依赖通路更为重要,NO 诱导凋亡的机制可能是对细胞氧化代谢和呼吸链的影响^[2],NO 是生理和病理状态下的一种重要的生物分子,它能抑制软骨细胞增殖,诱导软骨细胞凋亡^[3]。George^[4-5]等利用软骨组织细胞培养技术发现白介素(IL)-1、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等均可刺激软骨细胞产生大量的 NO,高含量的 NO 能使软骨产生降解作用,而 IL-1, TNF- α 等均不能诱导软骨细胞发生凋亡,因此可以推断 NO 是引起软骨细胞凋亡的主要介质,因此抑制 OA 局部炎症因子的表达可能成为阻断 OA 病理进展的一个主要环节。本文主要通过分析蚁龙通痹汤对 OA 关节液中炎症介质的抑制作用,以及对软骨细胞调控基因 Bcl-2, Bax 表达的影响,阐述蚁龙通痹汤保护软骨,延缓 OA 病理进程的效应,以期将来对 OA 的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 日本雄性大耳白兔 40 只,体重(2.0 \pm 0.15) kg,由北京通利实验动物养殖场提供,合格证号京动许字(2009)第 024 号。

1.2 药物 蚁龙通痹汤由食用蚂蚁(*Polyrhachis vicina* Roger)、制川乌(*Radix Aconiti Preparata*)、全蝎(*Scorpio*)、地龙(*Pheretima*)、骨碎补(*Drynariae Rhizome*)、黑豆(*Sojae Semen Nigrum*)等药物组成。药材均购自河北省保定市同仁堂药店。将上述药材浸泡、煎煮、去渣,浓缩至 2 g \cdot mL⁻¹(含生药)灭菌后,4 $^{\circ}$ C 冷藏保存备用。葡立胶囊(盐酸氨基葡萄糖胶囊,山西中远威药业生产)。

1.3 试剂与仪器 白细胞介素-1 β 与肿瘤坏死因

子- α ELISA 检测试剂盒(上海信然生物技术有限公司,批号 20060725);TUNEL 检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号 C1088),SABC(兔 IgG)-POD 试剂盒,(武汉博士德生物科技有限公司,批号 SAI020)电子天平,上海友声衡器有限公司;SHH.W21.600 三用电热恒温水箱,天津市华北实验仪器有限公司。

2 方法

2.1 分组与模型制作 日本雄性大耳白兔 40 只,根据体重随机分为 4 组:正常对照组、模型组、葡立胶囊组以及蚁龙通痹汤组,10 只/组。除正常对照组外,其余 3 组动物均行右侧膝关节前交叉韧带切断建立骨关节炎病变模型^[6]。ip 10% 水合氯醛(100 mg \cdot kg⁻¹)麻醉后,动物仰卧固定于手术台上,右膝关节屈曲 90 $^{\circ}$,消毒铺巾,行右膝关节髌骨内侧切开,向侧方牵开韧带,显露前交叉韧带,直视下切断(正常组只显露前交叉韧带,但不切断韧带)。前抽屉实验阳性加以验证造模是否成功,观察无明显出血后,生理盐水冲洗关节腔,依次缝合各层,碘伏消毒,术后动物自由活动。

2.2 给药方法 采用葡立胶囊作为阳性药^[7]。于 OA 模型成功后第 2 天开始给药。蚁龙通痹汤组、葡立胶囊组按成人每日每公斤体重用药量的 6 倍剂量作为大耳白兔每日每公斤体重的等效剂量^[8]。葡立胶囊 0.1 g \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹,蚁龙通痹汤生药 0.6 g \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹,溶于 10 mL 生理盐水中经胃管 ig,每日 1 次;正常对照组与模型组则给予 ig 等量生理盐水;各组连续 ig 4 周。期间常规饲养,正常饮水。

2.3 观察指标及方法

2.3.1 关节、滑膜、关节液及软骨细胞改变 于实验结束后肉眼观察各组家兔手术膝关节肿胀程度、有无充血、关节液的外观、以及关节软骨细胞的改变,并与对侧无手术膝关节进行对照。

2.3.2 病理学观察 动物处死后切取膝关节承重部位关节透明软骨,并取同侧滑膜层,置于 4% 多聚甲醛溶液中固定,脱水、石蜡包埋、连续切片,厚

4 μm , HE 染色观察滑膜细胞和软骨细胞形态。同一观察者在每张切片下随机选取 3 处高倍镜视野, 分别测定阳性细胞数量, 以其平均值作为该切片的代表值。

2.3.3 关节液炎症指标的检测 于末次给药后 24 h 处死动物。于关节腔内注射生理盐水 0.5 mL, 揉捏关节, 抽取关节冲洗液 500 μL , 置于 3 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的离心机中离心 15 min, 收集关节液上清 400 μL , $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存, 采用 ELISA 方法检测 IL-1 β 和 TNF- α 含量, 具体步骤按照试剂盒说明书进行。

2.3.4 TUNEL 法检测软骨细胞凋亡 按 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒说明书操作。

2.3.5 免疫组织化学法观察软骨 Bcl-2, Bax 表达 按 SABC 试剂盒说明书操作。

2.4 统计学处理 实验数据建立 Excel 数据库, 运用 SPSS 13.0 统计学软件进行分析, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 两组间比较采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 关节、滑膜、关节液及软骨细胞改变 正常组兔膝关节无肿胀、充血, 关节液透明, 关节软骨光滑、半透明, 滑膜无水肿; 模型组兔右膝关节明显肿胀、充血, 关节液混浊呈浅黄色、量增多, 关节软骨可见明显溃疡面及裂隙, 少数可见软骨下骨裸露, 滑膜出现明显水肿、充血现象; 蚁龙通痹汤组兔右膝关节轻度肿胀, 无明显充血, 关节液较模型组减少呈透明浅黄色, 关节软骨有轻度缺损, 未见到明显溃疡面, 滑膜轻度充血; 葡立胶囊组兔右膝关节轻度肿胀, 无明显充血, 关节液较模型组减少呈透明浅黄色, 关节软骨透明度减低, 有轻度缺损, 滑膜充血。

3.2 关节液中 IL-1 β , TNF- α 含量变化 正常组动物关节液中 IL-1 β 和 TNF- α 含量明显低于模型组

($P < 0.01$)。与模型组比较, 蚁龙通痹汤组和葡立胶囊组动物关节液中 IL-1 β 和 TNF- α 含量降低, 有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$)。蚁龙通痹汤组动物关节液中 IL-1 β 和 TNF- α 含量明显低于葡立胶囊组 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 蚁龙通痹汤对动物关节液中 IL-1 β ,

TNF- α 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	IL-1 β	TNF- α
正常	-	0.257 \pm 0.132 ²⁾	1.385 \pm 0.547 ²⁾
模型	-	0.579 \pm 0.345	5.425 \pm 3.219
蚁龙通痹汤	0.6	0.171 \pm 0.065 ²⁾	1.526 \pm 0.399 8 ^{1,3)}
葡立胶囊	0.1	0.367 \pm 0.166 ¹⁾	3.247 \pm 0.873 ¹⁾

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与葡立胶囊组比较³⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.3 免疫组化法观察 Bcl-2, Bax 表达 由表 2 可以看出, 蚁龙通痹汤组及葡立胶囊组 Bcl-2 阳性表达率较模型组均显著升高 ($P < 0.01$), 蚁龙通痹汤组与葡立胶囊组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。同时模型组 Bax 阳性表达率较正常组升高 ($P < 0.05$), 蚁龙通痹汤组、葡立胶囊组 Bax 阳性表达率较模型组明显降低 ($P < 0.01$), 蚁龙通痹汤组与葡立胶囊组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。Bcl-2/Bax 的比值, 模型组与正常组相比, Bcl-2/Bax 的比值降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与模型组相比, 蚁龙通痹汤组、葡立胶囊组均提高了 Bcl-2/Bax 的比值, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。蚁龙通痹汤组、葡立胶囊组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3.4 TUNEL 法检测软骨细胞凋亡 由表 3 可以看出, 模型组凋亡细胞数较正常组明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 蚁龙通痹汤组葡立胶囊组与模型组相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$), 蚁龙通痹汤组、葡立胶囊组组间相比, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 2 蚁龙通痹汤对软骨细胞 Bcl-2、Bax 阳性率及软骨细胞凋亡率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	Bcl-2/%	Bax/%	Bcl-2/Bax	凋亡率/%
正常对照	-	34.45 \pm 3.09	37.43 \pm 2.00	0.99 \pm 0.03	7.00 \pm 1.97 ¹⁾
模型	-	44.07 \pm 3.16 ¹⁾	62.15 \pm 3.38 ¹⁾	0.71 \pm 0.04 ¹⁾	35.65 \pm 4.58 ¹⁾
蚁龙通痹汤	0.6	57.09 \pm 4.24 ²⁾	51.20 \pm 2.43 ²⁾	1.12 \pm 0.08 ²⁾	21.15 \pm 4.83 ³⁾
葡立胶囊	0.1	50.69 \pm 5.33 ^{2,3)}	55.64 \pm 4.86 ^{2,3)}	0.91 \pm 0.14 ^{1,3)}	28.87 \pm 4.12

3.5 病理形态学观察 正常组软骨细胞排列整齐, 未见软骨细胞变性、增生的改变, 潮线完整; 模型组

软骨细胞数量明显减少, 排列紊乱, 少数可见潮线断裂不完整; 蚁龙通痹汤组可见软骨细胞数量较模型

组增多,排列较整齐,潮线完整;葡立胶囊组可见软骨细胞数量较模型组增多,排列较整齐,潮线完整但较蚁龙通痹汤组差。

4 讨论

骨关节炎的病理机制主要通过破坏软骨基质连接、改变软骨细胞的代谢反应致软骨破坏。细胞凋亡是一种由基因调控的细胞主动死亡过程,它是一个形态学现象。软骨细胞是成熟关节中唯一的细胞类型,它负责细胞外基质的合成和更新,并维持基质的完整^[9],由于软骨细胞凋亡,关节软骨中软骨细胞数减少、空陷窝增加及异常基质钙化,这都提示细胞结构的减少是基质降解和 OA 最终发生的一个重要原因。Bcl-2 是一种典型的抗凋亡蛋白质,Bcl-2 的过度表达并没有提高细胞的增殖能力,而是使细胞对死亡的抵抗能力增强,相关研究^[10]显示抑制细胞凋亡的基因主要是 Bcl-2 基因和 Bcl-2 相关基因 Bcl-XL,MCL-1。与此相反,Bax 是促凋亡家族成员,Bcl-2 和 Bax 是一对正负调节因子。其中 Bcl-2 基因所编码的 Bcl-2 蛋白,能阻止多种因素诱导的凋亡,而 Bax 是与 Bcl-2 作用相互拮抗的基因,它们结构上具有一定同源性,可相互结合形成二聚体。Bcl-2 的过量表达时,形成 Bcl-2 同源二聚体,能抑制细胞凋亡,细胞受到保护;而 Bax 的过度表达,不仅可以与 Bcl-2 形成异源二聚体,拮抗 Bcl-2 抑制凋亡的作用^[11],还可形成 Bax 同源二聚体,促进细胞色素 C 释放,激活 caspases 介导的细胞凋亡。因此,Bcl-2 与 Bax 的比值可反映 Bcl-2 和 Bax 在细胞凋亡中的效应,Bcl-2/Bax 降低,则促进细胞凋亡;Bcl-2/Bax 升高,则抑制细胞凋亡。

NO 作为 IL-1 β ,TNF- α 下游产物,是 IL-1 β 作用于软骨细胞主要的效应分子,人类正常关节中的软骨母细胞在体外培养均无 NO 产生,如果加入 IL-1 β 就会激活诱导型一氧化氮合酶(iNOS)产生大量 NO,最终诱导细胞凋亡^[12-13]。许多研究证实,NO 及其产物造成软骨细胞凋亡,其水平同软骨细胞凋亡数目,OA 的严重程度呈正相关。NO 诱导软骨细胞凋亡主要通过激活 p38,进而上调 p53,使促凋亡因子 Bax 表达增加而引起细胞凋亡。鉴于 NO 性质极其不稳定,在体内、体外均很快生成亚硝酸盐和硝酸盐,所以,检测 IL-1 β ,TNF- α 含量可以间接反映 NO 的水平,由此可以推断,对 OA 炎症上游的干预对于抑制软骨细胞凋亡具有重要意义。

本研究采用右侧膝关节前交叉韧带切断建立骨关节炎兔模型,通过切断前交叉韧带、内侧副韧带

造成膝关节的不稳,使关节软骨承受了异常的机械压力,从而导致软骨破损,继发产生滑膜的炎症反应,表现为兔膝关节液关节液中 IL-1 β ,TNF- α 含量明显升高,软骨组织 Bcl-2/Bax 降低。

中医认为膝骨关节炎病机主要是肝肾亏虚加之寒湿侵袭,脉络瘀阻,关节失去濡润所致。多为本虚标实之证。现代药理研究证实补益肝肾的中药复方可改善微循环、防止自由基过量产生、调节内分泌状态、增强免疫功能,延缓软骨退变的功能^[14]。蚁龙通痹汤由蚂蚁、制川乌、全蝎、地龙、骨碎补及黑豆等多种中药组成,具有补益肝肾,温经散寒通络、活血祛瘀、消肿止痛之效。膝骨关节炎家兔应用蚁龙通痹汤后,可以明显降低关节液中异常升高的 IL-1 β ,TNF- α 浓度;进而通过对 Bcl-2/Bax 表达比例的调节作用而抑制软骨细胞凋亡,延缓软骨基质的降解,阻止骨关节炎的进一步发展,从药物治疗的角度也验证了炎症反应在 OA 病理过程中的重要作用。同时蚁龙通痹汤由于可能存在多靶点的炎症上游干预机制,因此在抑制关节液 IL-1 β ,TNF- α 分泌,调节关节软骨细胞 Bcl-2 和 Bax 表达方面在一定程度上优于葡立胶囊,为将来在临床有效治疗骨关节炎奠定了坚实的实验基础。

但是蚁龙通痹汤有效成分众多,具有多靶点作用机制,因此本研究所证实其对炎症反应的抑制、降低细胞凋亡率、改善 Bcl-2/Bax 表达平衡作用可能只是其作用机制的一个方面,对 OA 其他病理机制的影响还需进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] Linda J, Sandell, Thomas A. Articular cartilage and changes in arthritis: cell biology of osteoarthritis [J]. *Arthritis Res*, 2001, 3(2):107.
- [2] Geborek P, Saxne T, Pettersson H, et al. Synovial fluid acidosis correlates with radiological joint destruction in rheumatoid arthritis knee joints [J]. *J Rheumatol*, 1989, 16(4):468.
- [3] Blanco F J, Lcmz M. L-1-induced nitric oxide inhibits chondrocytes proliferation via PGE₂ [J]. *Exp Cell Res*, 1995, 218(1):319.
- [4] George A C, Murrell M B, Martin M, et al. Nitric oxide: an important articular free radical [J]. *J Bone Joint Surg*, 1996, 78:265.
- [5] Francisco J B, Robert L O, Herbert S, et al. Chondrocyte apoptosis induced by nitric oxide [J]. *Am J Pathol*, 1995, 146:75.

活骨丹胶囊对大鼠血液流变学及部分生化指标的影响

卞敬琦¹, 冯月男, 张瑶, 张禹, 武爽, 牛雯颖, 肖洪彬^{2*}

(黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040)

[摘要] **目的:**研究活骨丹胶囊对实验大鼠激素性股骨头坏死模型的血液流变学、血脂、血钙、骨代谢等指标的影响。**方法:**取清洁级健康SD大鼠60只,雌雄各30只,按体重随机分成空白组,模型组,阳性对照药仙灵骨葆胶囊组(0.28 g·kg⁻¹),活骨丹胶囊高、中、低剂量组(1.80, 0.90, 0.45 g·kg⁻¹)。除空白组外,各组每周1次大腿内侧im醋酸泼尼松龙(24.5 mg·kg⁻¹),连续8周造模,在造模的同时,各给药组均灌胃给药,模型组和空白组给予等量蒸馏水,预防性灌胃给药8周后取血测定大鼠全血黏度,血浆黏度,血沉K值,血清总胆固醇(CHO),甘油三酯(TG)的含量,血清碱性磷酸酶(ALP),酸性磷酸酶(ACP),血钙(Ca),血磷(P)的含量。**结果:**与空白组比较,模型组中高、中、低各组切变率下的全血黏度均显著升高($P < 0.01$),血沉K值及血浆黏度均显著升高($P < 0.01$),血清中CHO, TG, ALP的含量均显著升高($P < 0.01$),血清Ca含量升高($P < 0.05$)。与模型组比较,活骨丹胶囊各剂量组可明显增加血清中的Ca, P含量,同时降低ALP和ACP的活性,降低全血黏度,血浆黏度及血脂,差异有显著性意义($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论:**活骨丹对于骨质破坏所引起的ALP, ACP升高有一定的拮抗作用,同时能降低血脂,调节血清中的Ca, P沉积,增加骨密度。

[关键词] 激素性股骨头坏死; 活骨丹胶囊; 血液流变学

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0250-04

[doi] 10.11653/syfy2013130250

Effect of Huogu Dan Capsule on Hemorheology and Some Biochemical Indexes in Rats

BIAN Jing-qi¹, FENG Yue-nan, ZHANG Yao, ZHANG Yu, WU Shuang, NIU Wen-ying, XIAO Hong-bin^{2*}
(Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

[收稿日期] 20121020(008)

[第一作者] 卞敬琦, 硕士研究生, Tel:15804669250, E-mail:bianjingqi@163.com

[通讯作者] * 肖洪彬, 教授, 博士生导师, Tel:0451-82194309, E-mail:hrbxiaohongbin@126.com

- [6] Hayami T, Pickarski M, Wesolowski G A, 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 Rheum*, 2004, 50(4):1193.
- [7] 韩国栋, 蒋再轶, 谭洁, 等. 仙灵骨葆胶囊联合盐酸氨基葡萄糖片治疗膝骨性关节炎[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(17):263
- [8] 孙敬方. 动物实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2002:357.
- [9] 贺牡丹, 王小平, 陈同生. 白介素-1 β 诱导关节软骨细胞凋亡的分子机理[J]. *中国细胞生物学学报*, 2011, 33(1):49.
- [10] 刘陶文. 凋亡调控基因 Bcl-2 家族研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 1999, 26(3):216.
- [11] Chen C J, Chen F C, Liao S L, et al. Effects of naloxone on lactate pyruvate metabolism and antioxidant enzyme activity in rat cerebral L/RJ[J]. *Neurosci Lett*, 2011, 287(2):113.
- [12] 邵越峰, 陈维毅, 卫小春, 等. 周期性张应变对重组人白细胞介素-1 β 诱导的一氧化氮表达作用的实验研究[J]. *中国药物与临床*, 2009, 9(4):265.
- [13] 王吉兴, 孙炜, 金大地. 一氧化氮酶抑制剂调控白细胞介素 1 β 和脂多糖对关节软骨的损害[J]. *中华风湿病学杂志*, 2002, 6(1):10.
- [14] 刘献祥, 李西海, 周江涛, 等. 透骨消痛颗粒防治膝骨性关节炎的机理研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2007, 27(1):50.

[责任编辑 聂淑琴]