

医学康复

· 基础研究 ·

电针联合中药浸膏对类风湿性关节炎大鼠疼痛行为、破骨细胞分化及 Hedgehog 信号通路的影响

王婵, 许明军, 左薇, 赵海涛, 陈钺, 严文彦, 朱雪萍

【摘要】 目的:探讨电针联合中药浸膏对类风湿性关节炎大鼠疼痛行为、破骨细胞分化及 Hedgehog 信号通路的影响。**方法:**将 50 只大鼠按照随机数字表法分为正常组、模型组、电针组、中药组及联合组各 10 只,除正常组外均建立类风湿性关节炎动物模型,建模后,电针组进行针刺治疗,中药组灌胃 1mL 的 12.24g/kg 中药浸膏溶液,联合组大鼠进行针刺联合中药浸膏溶液灌胃治疗,其他组别大鼠灌胃等体积的生理盐水,每日 1 次,连续 14d。采用热痛测试仪检测大鼠双侧后足足反射潜伏期(PWTL);运动评分观察各组大鼠运动情况;苏木精-伊红染色观察踝关节病理形态;骨吸收细胞酸性磷酸酶染色(TRAP)染色检测破骨细胞分化数目;免疫印迹技术检测各组大鼠刺猬信号通路(Hh)信号通路相关因子 Sonic 刺猬信号通路(Shh)、Patched-1(Ptch-1)、脑胶质瘤相关癌基因 1(Gli-1)蛋白。**结果:**末次治疗后,与正常组比较,模型组大鼠 PWTL、运动评分降低,破骨细胞分化数目、Shh、Gli1、Ptch1 蛋白含量均升高($P<0.05$);与模型组比较,电针组及中药组 PWTL、运动评分升高,破骨细胞分化数目、Shh、Gli1、Ptch1 蛋白含量均降低($P<0.05$),电针组及中药组组间比较差异无统计学意义,与电针组及中药组比较,联合组 PWTL、运动评分升高,破骨细胞分化数目、Shh、Gli1、Ptch1 蛋白含量均降低($P<0.05$)。**结论:**电针联合中药浸膏可显著降低类风湿性关节炎大鼠疼痛感,提高运动能力,同时降低破骨细胞分化程度,研究机制可能与调控 Hedgehog 信号相关。

【关键词】 类风湿性关节炎;电针;中药浸膏;疼痛行为;破骨细胞分化;Hedgehog 信号

【中图分类号】 R49;R593.22 **【DOI】** 10.3870/zgkf.2023.11.001

Effects of electroacupuncture combined with Chinese herbal extract on pain behavior, osteoclast differentiation and Hedgehog signaling pathway in rats with rheumatoid arthritis Wang Chan, Xu Mingjun, Zuo Wei, et al. Department of Acupuncture Treatment, Shiyao Taihe Hospital Affiliated to Hubei Medical College, Shiyao 442000, China

【Abstract】 ObjectiveTo investigate the effects of electroacupuncture combined with traditional Chinese medicine (TCM) decoction on pain behavior, osteoclast differentiation, and Hedgehog signaling pathway in rats with rheumatoid arthritis (RA). **Methods:** A total of 50 rats were randomly divided into normal group, model group, electroacupuncture group, TCM group, and combination group ($n=10$ each). The RA animal model was established in all groups except the normal group. After modeling, the electroacupuncture group received needle-stimulation treatment, the TCM group was administered 1 mL of 12.24 g/kg TCM decoction solution by gavage, and the combination group received both treatments. Other groups were gavaged with an equivalent volume of normal saline every day for 14 days. The paw withdrawal thermal latency (PWTL) was measured using a thermal pain tester to evaluate pain behavior. The motor score was observed to evaluate the movement of each group. Ankle joint pathology was observed by H&E staining. Tartrate-resistant acid phosphatase staining was used to detect osteoclast differentiation, and Western blotting was used to detect the expression of Sonic hedgehog (Shh), Patched-1 (Ptch-1), and glioma-related oncogene homology-1 (Gli-1) proteins in the Hedgehog signaling pathway. **Results:** After the last treatment, compared with the normal group, the PWTL and motor score in the model group were decreased, and the osteoclast differentiation number, and expression of Shh, Gli1, and Ptch1 proteins were increased ($P<0.05$). Compared with the model group, the

基金项目:湖北省中医药管理局中医药科研项目(ZY2023F072);十堰市引导性科研项目(21Y37)

收稿日期:2023-04-19

作者单位:十堰市太和医院(湖北医药学院附属医院)针灸科,湖北 十堰 442000

作者简介:王婵(1985-),女,主管技师,主要从事慢性病康复方面的研究。

通讯作者:许明军,409455912@qq.com

the Hedgehog signaling pathway. **Results:** After the last treatment, compared with the normal group, the PWTL and motor score in the model group were decreased, and the osteoclast differentiation number, and expression of Shh, Gli1, and Ptch1 proteins were increased ($P<0.05$). Compared with the model group, the

PWTL and motor score in the electroacupuncture and TCM groups were increased, while the osteoclast differentiation number, and expression of Shh, Gli1, and Ptch1 proteins were decreased ($P < 0.05$). There was no significant difference between the electroacupuncture group and the TCM group. Compared with the electroacupuncture and TCM groups, the PWTL and motor score in the combination group were increased, while the osteoclast differentiation number, and the expression of Shh, Gli1, and Ptch1 proteins were decreased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Electroacupuncture combined with TCM decoction can significantly reduce pain and enhance movement ability in rats with RA while decreasing osteoclast differentiation. The regulatory mechanism may be related to the Hedgehog signaling pathway.

【Key words】 rheumatoid arthritis; electroacupuncture; TCM decoction; pain behavior; osteoclast differentiation; hedgehog signaling

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种对称性多关节炎的免疫性疾病,我国 RA 发病率约为 0.4%,危害性极强,严重影响着患者生活质量^[1-2]。RA 发生发展是免疫系统攻击关节产生的慢性炎症,疾病可持续发展,患者疼痛加剧,并随着疾病进展软骨可出现不同程度的侵蚀性,加重骨骼肌萎缩,增加致残率^[3]。在 RA 发病机制中发现存在破骨细胞的过度活化,导致骨吸收能力增强而骨形成不足,全身性骨丢失,促进骨质疏松的发生发展^[4]。Hedgehog (Hh) 信号分子是一种局域性蛋白质配体,RA 患者的滑膜细胞中 Hh 通路的活性增加,可以促进成纤维细胞增生和滑膜细胞转化为滑膜成纤维细胞,进一步破坏关节^[5]。因此,抑制 Hh 通路可能成为治疗 RA 的新靶点。近些年,中医将 RA 归属于“痹病”范畴,发病机制与正气亏虚、邪犯阻络相关,采用针灸治疗可达到气血失衡、通经活络的作用^[6]。中药浸膏是由延胡索、三七、黄芪、白芍、牛膝、熟地黄、全蝎及甘草等药材组成的具有活血化瘀、温经通络、祛风散寒的中药浸膏,可应用于局部软组织损伤的修复。本文认为电针联合中药浸膏对类风湿性关节炎大鼠治疗方案中的必要性在于两者的联合使用可以增强治疗效果。基于此,本文进行如下研究,为 RA 治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物与材料 2022 年 1 月~2023 年 1 月于广东省医学 SD(SpragueDawley)大鼠中心购买 50 只成年雄性大鼠,体质量 200~250g,鼠龄 4~5 周,动物许可证号:SYXK(粤)2020-0002,5 只大鼠 1 个笼子,温度在 23°左右,湿度要求在 50%左右,黑夜白昼交替循环,自由进食标准颗粒饲料,饮干净饮用水。所有实验动物于开始实验前,适应环境饲养一周。本实验通过我院医学部动物伦理委员会审核批准,批号为 LA2020110。药物:中药浸膏干浸膏由湖南中医药研究所提供,批号 20040616,其中每 1 克干浸膏含生药 12.27g。延胡索 9g、三七 6g、黄芪 5g、白芍 5g、牛膝

3g、熟地黄 3g、全蝎 1g 及甘草 1g,提取方法参考文献^[7],回收率为 99.8%。主要试剂与仪器:聚山梨酯-80(货号:YC49-0551);鸡 II 型胶原蛋白(货号:YG10612);弗氏完全佐剂、0.9%生理盐水(货号:D614-0100、MBS2567632-C);戊巴比妥钠(货号:P3761,注射用水稀释为 2%溶液);细胞抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase,TRAP)试剂盒(货号:Bes5106);苏木素-伊红试剂盒(货号:G1120-100);Sonic 刺猬信号通路(Sonic hedgehog, Shh)抗体(BIOSS 公司,货号:bs-1544R);脑胶质瘤相关癌基因 1(glioma related oncogene homology-1, Gli-1)、Ptch1 抗体(货号:HPA068903、PAB6914);G6805-2 电针治疗仪;自动生化分析仪(Au5400, Beckman Coulter Inc. USA);光镜显微镜(OLympus, Japan);四板垂直电泳仪(DYCZ-24KF)。

1.2 分组及 RA 建模方法 将 50 只大鼠按照随机数字表法分为正常组、模型组、电针组、中药组及联合组,均 10 只。除正常组外,其余大鼠均按参考文献方法进行 RA 建模^[8],25mg 的鸡 II 型胶原蛋白溶解于 0.1mol/L 的醋酸溶液 6.0mL 中,4℃冰箱中过夜。取鸡 II 型胶原蛋白与等体积的弗氏完全佐剂制成乳化剂,胶原质量浓度为 2mg/mL,乳化剂在制作过程需保持胶原冰冷,大鼠单侧左侧足跖部位酒精消毒后,在足跖肉垫处皮内注射乳化剂,100 μ L/只,连续 1 周,以足爪严重肿胀、踝关节直径增长幅度 ≥ 2 mm、爪体积增长幅度 ≥ 0.80 ml 为造模成功,本文所有大鼠均建模成功。建模成功 1d 后,参考《实验针灸学》的方法^[9],电针组大鼠采用 0.25mm $\times$ 13mm 针刺合谷、太冲、肾俞、足三里,深度为 3~4mm,连接电针仪,电流强度为 1mA,频率为 2Hz/15Hz,每日 1 次,20min/次,连续针刺 14d。参考实验动物与人用药量的新换算^[10],中药组将中药浸膏和蒸馏水加热配置成相当于原生药 12.24g/kg,灌胃 1ml/kg,连续 14d。联合组大鼠采用电针联合中药灌胃治疗,正常组、模型组 2 组灌胃等体积的生理盐水,不做干预。

1.3 评定标准

1.3.1 热痛阈检测^[11] 各组大鼠分别在建模后及治疗后1d、7d、14d连续使用热痛测试仪检测大鼠双侧后足足反射潜伏期(paw withdrawal thermal latency, PWTL),光源对准大鼠足部中间,出现缩足或舔足时停止照射,反应时间记为PWTL,间隔5min,实验重复3次,取平均值。

1.3.2 运动评分 建模后、治疗后1d、7d、14d将各组大鼠单独放入盒内,观察大鼠活动情况,检测过程不少于30s。标准^[12]:无法行动为0分,只能爬行为1分,行走困难为2分,奔跑困难为3分,走跑自如为4分。

1.3.3 苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin staining, HE)观察关节病理形态 实验结束后,采用1%的戊巴比妥钠(40mg/kg)腹腔注射麻醉,脱臼后处死提取左侧踝关节,甲醛固定组织,24h后,常规脱水,石蜡包埋后,采用5μm厚度切片。将切片置于二甲苯中脱蜡,酒精脱水(70%-80%-90%-95%),自来水冲洗后,苏木精染色,1%的盐酸-乙醇分化,水洗蓝化,1%的伊红复染,酒精透水,200倍显微镜下观察病理形态。

1.3.4 抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate resistant acid phosphatase, TRAP)染色检测破骨细胞分化 实验结束后,取各组大鼠裸关节组织,进行常规石蜡包埋、切片、脱蜡、复水后,根据TRAP染色试剂盒使用说明书进行染色,染色完成后,磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)洗涤3次,待干燥后用中性树胶进行封片,在光学显微镜下拍照观察,选取踝关节组织进行破骨细胞的计数。图片的计数分析使用Image-Pro Plus 6.0软件。

1.3.5 免疫印迹检测 将液氮保护的踝关节组织,采用PBS冲洗后切碎,加入1mL的细胞裂解液,10000g 4℃离心5min,取上清液,加入样孔中,采用蛋白质定量(bicinchoninic acid, BCA法)BCA法测总蛋白浓度,每孔上样蛋白量20μg,十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)凝胶电泳。转印缓冲液配

制后放入4℃冰箱内预冷,转移至聚偏氟乙烯(Polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上,再加入脱脂奶粉,全程封闭时长为1h。加入1抗Shh(1:500)、Gli1(1:500)Ptch1(1:500),4℃过夜,TBS-吐温20(TBS-Tween-20, TTBS)TTBS漂洗3次,加入羊抗兔IgG二抗(1:2500),ECL化学发光试系统JY-Clear分析蛋白值。检测刺猬信号通路(hedgehog, Hh)信号通路相关因子Shh、Patched-1(Ptch-1)、glioma related oncogene homology-1, Gli-1蛋白水平。

1.4 统计学方法 采用SPSS 23.0软件进行统计分析,实验数据符合正态分布,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不同时间点多组间比较采用重复测量方差分析,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-t检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 5组大鼠不同时间PWTL比较 建模后、治疗后第1天、第7天及14天,与正常组比较,模型组、电针组、中药组及联合组大鼠PWTL均明显降低($P < 0.05$);建模后、治疗后第1天时模型组、电针组、中药组及联合组组间PWTL比较,差异无统计学意义;治疗后第7天及14天时,与模型组比较,电针组、中药组及联合组PWTL升高($P < 0.05$),与电针组、中药组比较,联合组PWTL升高($P < 0.05$),电针组与中药组比较差异无统计学意义;与建模后及治疗后第1天比较,电针组、中药组、联合组治疗后第7天及14天时PWTL均明显提高($P < 0.05$)。见表1。

2.2 5组大鼠不同时间运动评分比较 建模后、治疗后第1天、第7天及14天,与正常组比较,模型组、电针组、中药组及联合组大鼠运动评分均明显降低($P < 0.05$);建模后、治疗后第1天时模型组、电针组、中药组及联合组组间比较,差异无统计学意义;治疗后第7天及14天时,与模型组比较,电针组、中药组及联合组运动评分升高($P < 0.05$),与电针组、中药组比较,联合组运动评分明显升高($P < 0.05$),电针组与中药组比

表1 5组大鼠不同时间PWTL比较 s, $\bar{x} \pm s$

组别	n	建模后	治疗后			F	P
			第1天	第7天	第14天		
正常组	10	10.09±1.40	10.14±1.37	10.15±1.41	10.23±1.52	0.017	0.997
模型组	10	5.21±0.82 ^a	5.43±0.96 ^a	6.10±1.02 ^a	6.22±0.96 ^a	2.763	0.056
电针组	10	5.20±0.86 ^a	5.84±0.90 ^a	7.11±1.00 ^{abcde}	7.63±1.10 ^{abcde}	13.340	<0.001
中药组	10	5.33±0.88 ^a	5.90±0.88 ^a	7.19±1.13 ^{abcde}	7.80±1.22 ^{abcde}	12.000	<0.001
联合组	10	5.15±0.77 ^a	6.05±1.05 ^a	9.00±1.30 ^{abde}	9.14±2.25 ^{abde}	19.660	<0.001
F		50.040	34.740	19.010	10.700		
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		

与正常组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与联合组比较,^c $P < 0.05$;与建模后比较,^d $P < 0.05$;与治疗后第1天比较,^e $P < 0.05$

较差异无统计学意义;与建模后及治疗后第1天比较,电针组、中药组、联合组治疗后第7天及14天时运动评分均明显提高($P<0.05$)。见表2。

2.3 5组大鼠踝关节病理形态比较 末次治疗后,正常组大鼠未见滑膜组织病变,且未见增生;模型组大鼠滑膜组织存在大量炎症因子,滑膜组织形成血管翳且见明显的神经损伤,电针组、中药组及联合组滑膜组织炎症因子、纤维化增生程度均改善,且联合组效果最佳,见图1。

2.4 5组大鼠破骨细胞分化情况比较 末次治疗后,与正常组比较,模型组破骨细胞阳性数目升高($P<0.05$),与模型组比较,电针组、中药组及联合组破骨细胞阳性数目均降低($P<0.05$),与电针组、中药组比较,联合组的破骨细胞阳性数目降低($P<0.05$),电针组与中药组比较差异无统计学意义,见表3,图2。

2.5 5组大鼠 Shh、Gli1、Pth1 蛋白水平比较 末次治疗后,与正常组比较,模型组 Shh、Gli1、Pth1 蛋白升高,差异有统计学意义($P<0.05$),与模型组比较,电针组、中药组及联合组 Shh、Gli1、Pth1 蛋白降低($P<0.05$),与电针组、中药组比较,联合组 Shh、Gli1、

Pth1 蛋白降低($P<0.05$),电针组与中药组比较差异无统计学意义,见表4,图3。

表3 5组大鼠末次治疗后破骨细胞阳性数目比较 个, $\bar{x} \pm s$

组别	n	破骨细胞阳性数目
正常组	10	0.00±0.00
模型组	10	5.17±0.80 ^a
电针组	10	3.70±0.70 ^{abc}
中药组	10	3.48±0.68 ^{abc}
联合组	10	2.42±0.54 ^{ab}
F		97.900
P		<0.001

与正常组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与联合组比较,^c $P<0.05$

表4 5组大鼠末次治疗后 Shh、Gli1、Pth1 蛋白水平比较

组别	n	Shh	Gli1	Pth1
正常组	10	0.59±0.07	1.02±0.13	0.81±0.17
模型组	10	1.25±0.20 ^a	2.51±0.30 ^a	1.30±0.25 ^a
电针组	10	0.96±0.17 ^{abc}	1.83±0.20 ^{abc}	1.02±0.30 ^{abc}
中药组	10	0.93±0.19 ^{abc}	1.79±0.21 ^{abc}	1.00±0.29 ^{abc}
联合组	10	0.74±0.11 ^{ab}	1.42±0.28 ^{ab}	0.93±0.20 ^{ab}
F		25.460	56.650	3.816
P		<0.001	<0.001	0.001

与正常组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与联合组比较,^c $P<0.05$

表2 5组大鼠不同时间运动评分比较

分, $\bar{x} \pm s$

组别	n	建模后	治疗后			F	P
			第1天	第7天	第14天		
正常组	10	3.80±0.28	3.84±0.25	3.79±0.23	3.86±0.18	0.193	0.900
模型组	10	2.15±0.32 ^a	2.28±0.40 ^a	2.10±0.35 ^a	2.22±0.96 ^a	0.191	0.902
电针组	10	2.08±0.40 ^a	2.34±0.33 ^a	2.85±0.40 ^{abcde}	2.93±0.47 ^{abcde}	10.250	<0.001
中药组	10	2.11±0.33 ^a	2.39±0.41 ^a	2.80±0.43 ^{abcde}	2.80±0.44 ^{abcde}	6.950	0.001
联合组	10	2.14±0.40 ^a	2.50±0.38 ^a	3.20±0.60 ^{abcde}	3.04±0.55 ^{abcde}	9.896	<0.001
F		46.350	33.720	28.640	12.020		
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		

与正常组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与联合组比较,^c $P<0.05$;与建模后比较,^d $P<0.05$;与治疗后第1天比较,^e $P<0.05$

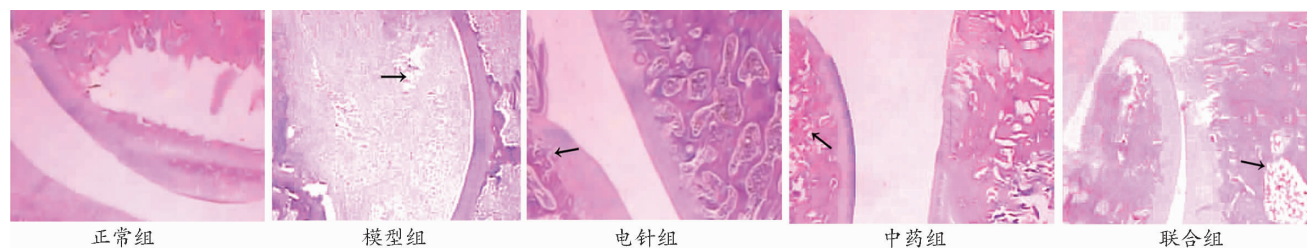


图1 5组大鼠踝关节病理形态比较(200×,苏木精-伊红染色,箭头为纤维化增生)

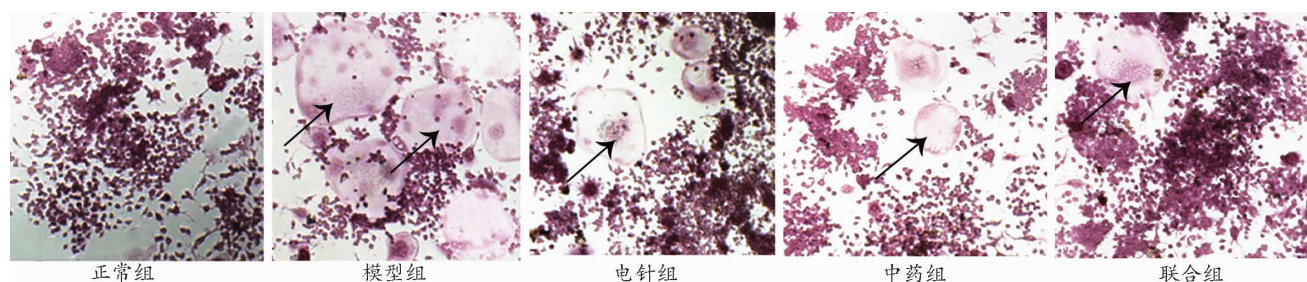


图2 5组大鼠末次治疗后破骨细胞分化情况比较(800×,TRAP染色,箭头为破骨细胞)

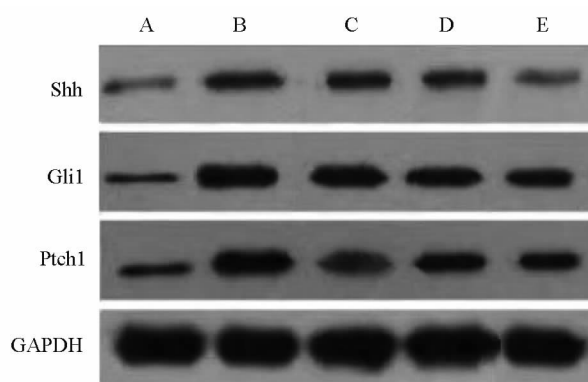


图3 5组大鼠末次治疗后 Shh、Gli1、Pth1 蛋白水平比较
注:A 正常组;B 模型组;C 电针组;D 中药组;E 联合组

3 讨论

现阶段,中医在 RA 的治疗作用广泛,电针及中药制剂均具有抗 RA 的作用,本文通过探讨两者联合治疗对 RA 大鼠疼痛行为、破骨细胞分化及 Hedgehog 信号通路的影响,为 RA 的用药提供相关依据。

RA 临床表现与“痹症”极为相似,随着各代学者对其研究,认为其发病机制与内因正虚、外邪侵袭及痰饮瘀血相关^[13-14]。根据发病机制以祛邪通络为治疗基本,并配合祛邪通络、益气养血及培补肝肾等方法进行治疗^[15-16]。本文研究结果显示:与正常组比较,模型组大鼠 PWTL 及运动功能评分均降低,说明 RA 大鼠存在痛觉过敏可影响运动行为,采用电针及中药浸膏治疗后均升高,且联合组效果最佳,认为联合治疗可显著提高大鼠痛阈,并增强运动行为能力。《内经》中记载,痹症的治疗以散寒为主,可采用针刺及药熨等方法。针灸功其外,汤药攻其内;合谷及太冲均为强效镇痛穴位;太冲穴最早见于《灵枢经》,针刺可治疗肝经风症^[17]。中药浸膏中延胡索活血,行气,止痛;三七活血化瘀、消肿定痛;黄芪味甘,补气固表,治疗气虚内伤、脾虚泄泻、浮肿。白芍具温阳祛湿、补体虚、健脾胃等功效,共发挥祛风散寒,通络止痛的功效^[18-19]。电针作通过刺激经络和穴位来达到调节人体气血、促进循环的效果,能够缓解关节炎引起的疼痛和炎症反应。而中药浸膏则含有多种具有抗炎、镇痛、免疫调节等作用的中草药成分,可通过内服进行治疗。电针和中药浸膏的联合使用可以在多个方面协同作用,缓解关节炎引起的疼痛,从而达到更好的治疗效果。

本文研究结果显示:与正常组比较,模型组大鼠破骨细胞分化数目增多,而采用电针及中药浸膏治疗后降低,且联合组效果最佳,认为电针联合中药浸膏可抑制破骨细胞分化减少骨损伤。有研究发现,在 RA 大鼠中可发现破骨细胞大量分化,并随着血管壁的形成,

软骨破坏加剧骨质侵蚀破坏,导致关节畸形^[20]。电针针刺肾俞及足三里可发挥滋养五脏六腑调节全身脏腑功能。肾为先天之本,针刺肾俞及足三里,可激发阳气、疏通经脉,活利关节。现代药理表明,足三里、肾俞具有延缓关节损伤等作用。李翠芳等^[21]研究表明,对 RA 家兔采用电针针灸足三里、肾俞可通过调节核因子 κ B 受体活化因子配体/骨保护素(Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand/Osteoprotegerin, RANKL/OPG)信号通路减少破骨细胞分化导致的软骨降解。中药浸膏对膝关节炎大鼠具有较好的骨保护作用,可通过降低氧自由基生成,改善脂质过氧化,进一步减少软骨细胞损伤,预防退变^[22]。三萜皂苷类是牛膝主要成分,在骨质疏松大鼠中可抑制破骨细胞形成而降低骨吸收^[23]。黄芪、熟地黄在骨质疏松大鼠中可影响破骨细胞分化,增加成骨细胞活性,进而减少软骨损伤。本文认为电针联合中药浸膏可通过抑制 RA 大鼠破骨细胞分化而降低骨损伤^[24]。

本文研究结果显示:与正常组比较,模型组大鼠 Shh、Gli1、Pth1 蛋白水平升高,采用电针及中药浸膏治疗后显著降低,以联合组最佳,说明电针联合中药浸膏可通过调控骨代谢相关信号通路而控制 RA 疾病进展。在 RA 发生时,Shh 蛋白结合 Pth1 蛋白可减少对信号通路分子 Smoothened(Smo)抑制,从而提高 Gli1 活性,加重 RA 病情^[25]。相关研究表明,Shh 在 RA 大鼠中表达激活,可促进软骨细胞凋亡,加剧软骨退化,并认为通过采用 Hh 信号通路抑制剂环巴胺可发挥软骨保护作用,可能成为 RA 治疗潜在方法^[26]。电针对 RA 大鼠 Shh、Gli1、Pth1 蛋白的影响暂无相关研究。但在脑梗死大鼠中采用电针针刺百会可通过调节 Shh 蛋白表达而改善病情。中药浸膏对 Hh 信号的研究机制尚不明确,中药浸膏中三七及黄芪均对 Hh 信号具有调节作用。例如在慢性萎缩性胃炎大鼠中黄芪、三七及其配伍可能通过上调 Hedgehog 信号通路中多个靶分子的基因和蛋白表达水平,进一步促进了胃黏膜的腺体分泌,从而起到改善大鼠的胃黏膜病变的作用^[27]。也有研究表明,在乳腺癌中采用黄芪解毒汤干预,可通过显著抑制 SHH 信号而抑制癌细胞活性,发挥抗乳腺癌的作用^[28]。本文推测电针联合中药浸膏可通过降低 Shh、Gli1、Pth1 抑制关节疼痛及破骨细胞分化。

综上所述,电针联合中药浸膏可显著降低类风湿性关节炎大鼠疼痛,提高运动行为能力,同时降低破骨细胞分化程度,其研究机制可能与调控 Hedgehog 信号相关。

【参考文献】

- [1] Carvajal Alegria G, Croft AP. Fibroblasts, a target for imaging and therapeutics in rheumatoid arthritis[J]. Rheumatology (Oxford). 2022,61(7):2726-2727.
- [2] 孙建,陶丽红,杭煜宇,等. 温经蠲痹汤对寒湿痹阻证类风湿性关节炎患者的临床疗效[J]. 中成药,2023,45(03):1036-1039.
- [3] Mangkornongsakul V, Phan K, Smith SD, et al. Pemphigus and rheumatoid arthritis: A systematic review and meta-analysis[J]. Dermatol Ther. 2021,34(2):e14845.
- [4] 商玮,徐子涵,郭郡浩,等. 姜黄素对类风湿关节炎破骨细胞分化中 NF- κ B p65 和 NFATc1 表达的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2018,24(4):467-472.
- [5] Rankin SA, Han L, McCracken KW, et al. A Retinoic Acid-Hedgehog Cascade Coordinates Mesoderm-Inducing Signals and Endoderm Competence during Lung Specification. Cell Rep. 2016,16(1):66-78.
- [6] 吴显,张慧,杨帆,等. 基于数据挖掘的针灸治疗类风湿关节炎取穴规律探析[J]. 中国医药导报,2022,19(24):11-15,35.
- [7] 郭建生,欧莉,周军,等. 筋骨片对骨性关节炎大鼠模型的影响[J]. 中国中药杂志,2006,52(03):232-235.
- [8] 陈李泽成,李金凤,乔锋,等. 调气汤对大鼠类风湿性关节炎的治疗作用和机制研究[J]. 中国中医骨伤科杂志,2023,31(02):6-11.
- [9] 李忠仁. 实验针灸学[M]. 第2版. 北京:中国中医药出版社 2007: 255-257.
- [10] 熊远珍. 实验动物与人用药量的新换算[J]. 江西医学院学报, 1997, 42(4):41.
- [11] 杨东宇,赵中亭,陈家澍,等. 类风湿性关节炎热痹证大鼠模型的复制与评价[J]. 时珍国医国药,2021,32(8):2042-2045.
- [12] 谈宪城. 麦粒灸对类风湿关节炎大鼠行为学与形态学的影响变化[D]. 南京中医药大学,2015.
- [13] Lin L, Zhu S, Huang H, et al. Chemically modified small interfering RNA targeting Hedgehog signaling pathway for rheumatoid arthritis therapy[J]. Mol Ther Nucleic Acids. 2022, 12(31):88-104.
- [14] 肖素芸. 三乌胶丸提取物的制备及其经皮递送模式下对类风湿性关节炎的治疗效应[D]. 昆明理工大学,2022.
- [15] 王红娟,梁超,温泽发,等. 蜂针治疗联合药物外敷对类风湿性关节炎活动期患者临床疗效、内循环状态及炎症因子的影响[J]. 针灸临床杂志,2023,39(1):33-38.
- [16] 尚娅男. 基于 NF- κ B 信号通路探讨艾灸对类风湿性关节炎大鼠抗炎效应的 IKK β /I κ B- α 机制研究[D]. 成都中医药大学,2021.
- [17] 陈婕. 电针联合雷火灸治疗寒湿痹阻型类风湿性关节炎的临床疗效观察[D]. 福建中医药大学,2022.
- [18] 陈爱党,康宁,郭建洲,等. 白芍总苷胶囊联合来氟米特治疗对类风湿关节炎患者炎症因子、心肌酶谱及不良反应的影响[J]. 实用医院临床杂志,2022,19(5):131-134.
- [19] 郑乐,韩隆胤,许舒迪,等. 基于网络药理学探讨牛膝-续断药对在类风湿关节炎中的作用机制[J]. 中国新药杂志,2020,29(16): 1911-1920.
- [20] Iwamoto N, Kawakami A. The monocyte-to-osteoclast transition in rheumatoid arthritis: Recent findings[J]. Front Immunol. 2022,12(13):998554.
- [21] 李翠芳,赵凌艳,肖丽,等. 电针配合穴位注射骨瓜提取物治疗日本大耳白兔类风湿关节炎的实验研究[J]. 针灸临床杂志,2015, 31(9):69-72.
- [22] 郭建生,欧莉,周军,等. 筋骨片对兔骨性关节炎影响的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(3):48-51.
- [23] 于大永,吕晓超,史丽颖,等. 牛膝中三萜皂苷抑制破骨细胞分化作用的研究[J]. 中国中医骨伤科杂志,2011,19(03):9-10+13.
- [24] 冯天笑,黄湘龙,霍路遥,等. 基于网络药理学探讨黄芪-熟地黄药对治疗骨质疏松症的作用机制[J]. 中国医院用药评价与分析, 2021,21(10):1157-1164.
- [25] Zhu S, Dang J, Shi Y, et al. Sonic hedgehog promotes synovial inflammation and articular damage through p38 mitogen-activated protein kinase signaling in experimental arthritis[J]. J Autoimmun. 2022,10(132):102902.
- [26] Yang L, Zou QH, Zhang Y, et al. Proteomic analysis of plasma from rheumatoid arthritis patients with mild cognitive impairment[J]. Clin Rheumatol. 2018,37(7):1773-1782.
- [27] 赵唯含,高康丽,李宁飞,等. 黄芪、三七及其配伍对慢性萎缩性胃炎大鼠胃组织 Hedgehog 信号通路的调节作用[J]. 中华中医药杂志,2016,31(5):1951-1955.
- [28] 丁玲,刘丽芳,吴世婷,等. 黄芪解毒汤含药血清对乳腺癌细胞 MCF-7 中 SHH、PTCH1、SMO、GLI1 基因及 CyclinD1 蛋白表达的影响[J]. 中医药导报,2016,22(24):23-28.

作者·读者·编者

《中国康复》杂志实行网站投稿

《中国康复》杂志已经实行网上投稿系统投稿,网址 <http://www.zgkfzz.com>,欢迎广大作者投稿,并可来电咨询,本刊电话:027-69378389,E-mail:zgkf1986@163.com;kfk@tjh.tjmu.edu.cn。