

# 低频超声促透通络止痛中药对不同程度膝骨关节炎大鼠模型 CTX-II、COMP 及 MMP-3 的影响

戚晴雪<sup>1</sup> 马玉峰<sup>2</sup> 吴 忌<sup>1</sup> 郑皓云<sup>1</sup> 朗 松<sup>1</sup> 杨黎黎<sup>1</sup> 赵 军<sup>1</sup> 张 栋<sup>1</sup> 王庆甫<sup>2</sup>

(1 北京中医药大学,北京,100029; 2 北京中医药大学第三附属医院,北京,100029)

**摘要** 目的:探讨通络止痛中药在低频超声促透下对大鼠不同程度膝骨关节炎(Knee Osteoarthritis, KOA)模型的软骨组织形态学及血清中 CTX-II、COMP 及 MMP-3 的影响,阐述该疗法的作用机制及其优势。方法:采用切断前交叉韧带的经典方法制备 KOA 大鼠模型。SD 大鼠随机分为 3 组:空白对照组、超声促透组和中药外敷组。所有大鼠左膝造模,空白对照组正常饲养,术后 2、4、8 周时随机选取空白对照组大鼠检测血清相关细胞因子;处死后观察膝关节股骨内侧髌软骨组织形态学改变,根据软骨改良 Mankin's 评分予以评价,并根据 Mankin's 评分结果确定大鼠 KOA 的病变程度。超声促透组和中药外敷组在术后 2、4、8 周时各随机选取大鼠进行干预处理,超声促透组使用超声电导仪对术侧膝关节促透通络止痛中药,中药外敷组仅使用中药外敷。1 次/d,30 min,连续治疗 2 周。2 周后处死,记录数据同空白对照组。结果:空白对照组大鼠造模后 2、4、8 周时大鼠软骨组织形态学发生明显改变,Mankin's 评分的增加与时间成正相关,血清中 CTX-II、COMP、MMP-3 的含量发生不同程度的增高。超声促透组与空白对照组相比,软骨组织形态学发生改变,Mankin's 评分 2、4、8 周组降低,2、4 周时差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),4 周时有统计学意义( $P < 0.05$ );其作用显著优于中药外敷组,2 周时下降明显,两两相比有统计学意义( $P < 0.05$ )。超声促透组与空白对照组相比,2、4、8 周时 CTX-II 含量明显降低,二者相比有统计学意义( $P < 0.05$ );8 周时,CTX-II 含量降低,二者相比有统计学意义( $P < 0.05$ );其作用显著优于中药外敷组。超声促透组与空白对照组相比,2、4 周时 COMP 含量减少( $P < 0.05$ );与中药外敷组相比,4 周时含量降低明显,二者相比有统计学意义( $P < 0.05$ )。超声促透组和空白对照组相比,2、4 周时 MMP-3 含量降低,二者有统计学意义( $P < 0.05$ );4 周时超声促透组与空白对照组相比,MMP-3 含量显著降低( $P < 0.01$ ),与中药外敷组相比,含量降低明显,二者相比有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论:低频超声促透通络止痛中药可以有效减缓或阻止膝关节软骨的退行性变,这可能是通过降低血清中软骨基质相关细胞因子 CTX-II、COMP 和 MMP-3 含量,减缓软骨基质的退变所致,但对重度 KOA 软骨退变的缓解作用并不明显;与传统的中药外敷法相比,具有起效快,疗效好等优点。

**关键词** 膝骨性关节炎;低频超声;通络止痛中药;软骨基质;软骨组织形态学

## Effect of CTX-II, COMP and MMP-3 on Rat Models with Knee Osteoarthritis by Tongluozhitong Herbs Through Low-Frequency Ultrasound Transdermal Penetration

Qi Qingxue<sup>1</sup>, Ma Yufeng<sup>2</sup>, Wu Ji<sup>1</sup>, Zheng Haoyun<sup>1</sup>, Lang Song<sup>1</sup>, Yang Lili<sup>1</sup>, Zhao Jun<sup>1</sup>, Zhang Dong<sup>1</sup>, Wang Qingfu<sup>2</sup>

(1 Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2 The Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

**Abstract Objective:** To investigate effect of cartilage morphology and CTX-II, COMP and MMP-3 in serum on varying degrees of knee osteoarthritis in rats treated with Tongluozhitong herbal with low-frequency ultrasound transdermal penetration and explain the mechanism and advantage of the therapy. **Methods:** The rat models of KOA were built by the classic method of cutting off anterior cruciate ligament. SD rats were randomly divided into three groups: control group, the group of ultrasonic transdermal penetration and herbal topical groups. Left knees of rats were models. The control group were normally fed, and were randomly selected to extract serum and detect cytokines at 2nd/4th/8th weeks after surgery and the control group were observed on femoral condylar cartilage morphology and were evaluated by cartilage Mankin's score. Ultrasonic transdermal penetration group and herbal topical group were randomly selected for intervention treatment at the 2nd/4th/8th weeks after surgery, 1/d, 30min, 2 weeks. After 2 weeks, the data was recorded which was the same as the control group. **Results:** Cartilage morphology of the control group were changed significantly at 2nd/4th/8th weeks after modeling and cartilage Mankin's score was positively correlated with increased time and CTX-II, COMP, MMP-3 in serum increased. Compared with the control group, cartilage morphology and Mankin's score at 2nd/4th weeks changed ( $P < 0.05$ ). Its role was better than topical medicine group. Mankin's score decreased significantly at 2nd week ( $P <$

基金项目:2012 年北京市中医药外治法项目(编号:303-02-71)

作者简介:戚晴雪(1984—),男,河北省张家口人,在读博士生

通信作者:王庆甫(1956.10—),男,硕士学历,教授,博士生导师,研究方向:中医药防治骨关节病, Tel: (010)52075251, E-mail: qingpu-wang@sohu.com

0.05)。Compared with the control group, CTX-II of ultrasonic transdermal penetration group decreased sharply at 2nd/4th/8th weeks ( $P < 0.05$ ), and it was significantly better than herbal topical groups. Compared with the control group, COMP of ultrasonic transdermal penetration group decreased sharply at 2nd and 4th weeks ( $P < 0.05$ ). Compared with the herbs topical group, COMP of ultrasonic transdermal penetration group decreased at 4th week ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, MMP-3 of ultrasonic transdermal penetration group decreased at 2nd/4th weeks and there was diversity ( $P < 0.05$ ). Compared with the herbs topical group, MMP-3 of ultrasonic transdermal penetration group decreased at 4 weeks ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The low-frequency ultrasound transdermal Penetration Tongluozhitong herbs can effectively Preventing and slowing the Progression of the disease. It may be reducing cartilage matrix-associated cytokines CTX-II, COMP and MMP-3 in serum, slowing the degeneration of cartilage matrix; but there is no obvious effect on cartilage of severe KOA. Compared with the traditional method of herbs topical, it has the advantages of rapid onset and efficacy.

**Key Words** Knee osteoarthritis; Low-frequency ultrasound; Tongluozhitong herbs; Cartilage matrix; Cartilage morphological

中图分类号: R285.6; R684.3 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2015.04.024

膝骨关节炎 (Knee Osteoarthritis, KOA) 是老年人群常见的骨科疾病, 严重影响患者生活质量。尽管中西医治法在针对该病的治疗上取得一定成绩, 但受传统方法限制, 中药有效成分不能很好的渗入患处, 疗效难以发挥。而近些年新兴的低频超声促透法可能改变这一现状, 中药多为大分子物质, 很难透过皮肤屏障达于患处, 而通过低频超声特有的空化作用<sup>[1]</sup>可以使得药物有效成分直达病灶, 形成局部浓集和浸润而起到靶位治疗的作用。通络止痛中药主要由桃仁、红花、桂枝、白芍等构成, 具有活血通络止痛的功效。临床上应用低频超声促透通络止痛中药治疗 KOA 的临床疗效也得到证实<sup>[2]</sup>。我们通过动物实验建立不同程度大鼠 KOA 模型, 并利用通络止痛中药的低频超声促透法对其进行干预, 从大鼠软骨组织形态学以及相关细胞因子 CTX-II、COMP 及 MMP-3 含量变化等方面对该疗法的有效性及其起效机制进行进一步验证。

## 1 材料与方法

1.1 药物与动物 通络止痛中药萃取液, 批号: 201303, 由北京诺亚同舟医疗技术有限公司提供; SPF 级 SD 大鼠 [SCXK(京)2012-0001], 雄性, 体重约 200 g, 由北京维通利华实验动物有限公司提供。

1.2 主要仪器设备 超声电导仪, 型号: NAVA-01TD, 北京诺亚同舟医疗器械有限公司提供; 光学显微镜 (日本), BX50-3E01; 石蜡切片机 (日本), IVS-400; 全自动封闭式组织脱水机 (日本), Rotovy 4634; 精密电子天平 (上海), 52750; 超低温冰箱 (日本), MDF-U50A。

1.3 实验动物分组与处理 84 只全雄 SD 大鼠按照随机区组法随机分为 3 组: 空白对照组 (18 只)、超声促透组 (33 只) 和中药外敷组 (33 只)。所有大鼠采取 Stoop 前交叉韧带切除的经典方法<sup>[3]</sup>予以造

模, 左膝为手术侧, 右膝为对照侧。空白对照组术后 2、4、8 周随机选取 6 只大鼠观察其行为学变化, 记录 Lequesne MG 评分后予以处死, 肉眼观察膝关节软骨大体改变, 光镜下观察滑膜和股骨内侧髁软骨组织形态学变化, 记录软骨 Mankin's 评分; 超声促透组和中药外敷组在术后 2、4、8 周时分别随机选取 11 只大鼠进行药物干预, 2 周后观察其行为学变化, 记录 Lequesne MG 评分后予以处死, 检测指标同空白对照组。干预时, 剪去左膝关节周围的鼠毛, 温水擦拭干净, 选取大鼠膝关节股骨下段外侧平坦处, 滴上中药萃取液约 0.5 mL, 放置超声探头, 使与皮肤接触。1 次/d, 30 min, 连续干预 2 周。超声促透组打开超声电导仪, 参数设定: 超声频率: 10 kHz, 功率 30 W, 透入速率: 30 ~ 60  $\mu\text{g}$ , 30 min/次。中药外敷组保持超声电导仪的关闭状态。

1.4 动物造模 根据前交叉韧带切除的经典方法制备大鼠 KOA 模型。10% 水合氯醛腹腔注射麻醉, 髌旁内侧入路, 显露大鼠髌骨后将髌骨向外侧脱位, 过屈膝关节显露前交叉韧带, 直视下眼科剪切断前交叉韧带, 行抽屉试验确认前交叉韧带完全切断, 止血, 髌骨复位, 冲洗创口, 丝线逐层闭合关节腔。术后 3 d, 每日大鼠臀大肌肌注 10 万青霉素以预防感染。术后强迫大鼠在笼外运动 2 h/d。

1.5 指标检测 空白对照组大鼠术后 2、4、8 周分别按照随机区组法编号随机选取 6 只进行指标检测, 包括大鼠膝关节软骨组织形态学变化、Mankin's 评分以及血清中 CTX-II、COMP 及 MMP-3 含量变化。

1.5.1 膝关节软骨组织形态学检测及 Mankin's 评分 大鼠禁食 24 h, 麻醉下打开左膝关节, 使用锐利刀片切取股骨内侧髁软骨, 用 10% 中性福尔马林溶液固定后, 脱钙、切片, 作苏木精-伊红染色, 光镜下

观察。软骨组织学应用 Mankin's 评分予以评价 (Mankin's 评分见表 1), 并按照评分对软骨的破坏程度进行分级<sup>[4]</sup>: (0~1 分为正常软骨, 1~5 分为轻度软骨损伤, 6~9 分为中度软骨损伤, 10~14 分为重度软骨损伤)

表 1 Mankin's 评分

分类	评分
结构	
正常	0
表层破坏	1
血管翳及表层破坏	2
浅层裂隙形成达移行层	3
局限性深达骨质辐射层裂隙	4
深达骨质钙化层软骨缺损负重区	5
全层软骨缺损	6
细胞	
正常	0
细胞过多、紊乱	1
细胞成簇	2
细胞少	3
藏红 O 染色	
正常	0
轻染	1
中等染色	2
深染	3
失染	4
潮线的完整性	
完整	0
不完整, 有血管通过	1
总分 0~14	2

1.5.2 血清中 CTX-II、COMP 及 MMP-3 含量检测

大鼠麻醉后, 胸前区去毛, 探测心尖搏动最强处标记并消毒, 应用 1 mL 注射器, 将针对对准此处, 深度约 3 mm, 回血后即可缓缓地抽血约 1 mL。静置后离心, 用移液器吸取血清, 放在 EP 管里, -20 °C 保存待检, 采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 对其进行检测。

1.6 统计学处理 应用 SPSS 17.0 软件进行数据的统计学处理所有数据均用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 对试验数据做正态分布检验和齐性检验, 应用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 进行统计处理, 以  $P < 0.05$  为有统计学意义。

2 结果

超声促透组 4 周组与中药外敷组 8 周组各死亡 1 只大鼠, 不列入最终统计。

2.1 软骨组织形态学观察 大鼠正常膝关节软骨: 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, Mankin's 评

分 0~1 分 (见图 1A)。

空白对照组 (2 周): 软骨表面不平整, 轻度染色, 软骨细胞排列出现无序, 数量增多, 潮线正常, Mankin's 评分 2~5 分 (见图 1B)。

空白对照组 (4 周): 软骨表层裂隙形成, 裂隙达移行层, 软骨细胞排列无序, 层次不清, 可见簇集的软骨细胞, 细胞轻度染色, 可见潮线不完整, Mankin's 评分 6~9 分 (见图 1C)。

空白对照组 (8 周): 软骨破损深达骨质钙化层, 细胞簇集明显, 排列紊乱, 层次不清, 深染或失染, 潮线不完整, Mankin's 评分 10~14 分 (见图 1D)。

超声促透组与空白对照组相比, 在 2 周组和 4 周组可以观察到一定差别: 2 周组软骨表面不平整, 细胞染色正常, 软骨细胞排列基本正常, 层次清楚, 潮线完整 (见图 1E); Mankin's 评分降低, 二者相比有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 4 周组软骨表层可见不明显裂隙, 裂隙较浅, 细胞轻度染色, 软骨细胞排列较为规则, 细胞簇集程度减轻, 潮线完整 (见图 1F), Mankin's 评分降低, 二者相比有统计学意义 ( $P < 0.05$ );

中药外敷组与空白对照组相比, 在 2 周时意义较大: 2 周组软骨表面粗糙, 细胞染色正常, 软骨细胞排列尚可, 层次清晰, 潮线完整 (见图 1G), Mankin's 评分降低, 二者相比有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 超声促透组与中药外敷组相比, 2、4 周组细胞染色正常, 簇集不明显, 排列尚可, Mankin's 评分进一步减少, 以 2 周组最为显著, 二者相比具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。(中药外敷组 4 周组见图 1H) 见表 2。软骨组织形态学见图 1。

表 2 Mankin's 评分 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	2 周组评分	4 周组评分	8 周组评分
空白对照组	3.83 ± 0.753	8.00 ± 0.632	12.33 ± 0.816
超声促透组	1.91 ± 0.944 * Δ	6.60 ± 1.265 *	12.69 ± 0.701
中药外敷组	2.82 ± 1.079 *	7.45 ± 1.306	12.20 ± 0.919

注: 与空白对照组相比, \*  $P < 0.05$ ; 与中药外敷组相比, Δ  $P < 0.05$ 。

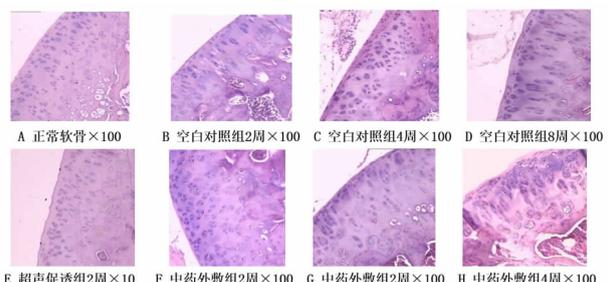


图 1 软骨组织形态学

2.2 CTX-II 含量变化 2、4 周时,超声促透组与空白对照组相比,含量降低,二者相比有明显意义( $P < 0.01$ );中药外敷组含量低于空白对照组,二者相比有统计学意义( $P < 0.05$ );8 周时,超声促透组与空白对照组相比,CTX-II 含量较少,二者相比有统计学意义( $P < 0.05$ ),其作用优于中药外敷组( $P < 0.05$ )。(结果见表 3)。

表 3 II 型胶原羧基端肽 (CTX-II) 含量变化( $\bar{x} \pm s$ )

组别	2 周组评分	4 周组评分	8 周组评分
空白对照组	0.890 ± 0.235	1.712 ± 0.572	2.131 ± 0.519
超声促透组	0.482 ± 0.142 ** <sup>△</sup>	0.978 ± 0.382 **	1.393 ± 0.327 * <sup>△</sup>
中药外敷组	0.660 ± 0.218 *	1.106 ± 0.378 *	1.908 ± 0.680

注:与空白对照组相比,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与中药外敷组相比,<sup>△</sup> $P < 0.05$ 。

2.3 COMP 含量变化 2 周时,超声促透组和中药外敷组与空白对照组相比含量均明显减少( $P < 0.01$ );4 周时,超声促透组与空白对照组相比,COMP 含量明显减少( $P < 0.01$ ),这一作用优于中药外敷组,二者相比有统计学意义( $P < 0.05$ );8 周时,超声促透组和中药外敷组与空白对照组相比无明显统计学意义。(结果见表 4)。

表 4 软骨寡聚基质蛋白 (COMP) 的含量变化( $\bar{x} \pm s$ )

组别	2 周组评分	4 周组评分	8 周组评分
空白对照组	0.704 ± 0.174	0.832 ± 0.232	1.211 ± 0.299
超声促透组	0.390 ± 0.148 **	0.517 ± 0.085 ** <sup>△</sup>	1.308 ± 0.531
中药外敷组	0.483 ± 0.127 **	0.647 ± 0.121 *	1.292 ± 0.294

注:与空白对照组相比,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与中药外敷组相比,<sup>△</sup> $P < 0.05$ 。

2.4 MMP-3 含量变化 2 周时,超声促透组和空白对照组相比,MMP-3 含量降低,二者比较有统计学意义( $P < 0.05$ );4 周时超声促透组与空白对照组相比,MMP-3 含量明显减少( $P < 0.01$ ),这一作用优于中药外敷组( $P < 0.05$ );8 周时,超声促透组含量低于空白对照组和中药外敷组,但无统计学意义。(结果见表 5)。

表 5 基质金属蛋白酶-3 (MMP-3) 含量( $\bar{x} \pm s$ )

组别	2 周组评分	4 周组评分	8 周组评分
空白对照组	0.225 ± 0.063	0.418 ± 0.121	0.715 ± 0.264
超声促透组	0.150 ± 0.156 *	0.245 ± 0.469 ** <sup>△</sup>	0.565 ± 0.191
中药外敷组	0.160 ± 0.149 *	0.323 ± 0.080 *	0.682 ± 0.220

注:与空白对照组相比,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与中药外敷组相比,<sup>△</sup> $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

本动物实验利用前交叉韧带切除的经典方法成功制备出大鼠不同程度的 KOA 模型;通过低频超声

促透通络止痛中药对大鼠模型进行干预并与中药的普通外敷法进行比较,从大鼠膝关节软组织形态学以及软骨基质的相关降解产物 II 型胶原羧基端肽 (CTX-II)、软骨寡聚基质蛋白 (COMP) 及基质金属蛋白酶-3 (MMP-3) 等指标对其进行观察,以阐述低频超声促透通络止痛中药对不同程度 KOA 的作用效果和作用机制。

3.1 低频超声作用机理 低频超声又称为长波超声,它的频率低但波长较长,目前所公认的频率在 20 ~ 80 kHz,与高频超声相比,低频超声在从近场向远场传递时作用更强,其有效的治疗空间在远场,即在同样的声压下,超声频率越低,质点所达到的组织越深,这便是低频超声效应的关键点,低频超声些大多数的能量可以被组织所吸收而发挥效应<sup>[5]</sup>。有学者<sup>[6]</sup>应用低频超声 (20 kHz) 和高频超声 (850 kHz) 的研究其对脱脂牛奶肠杆菌的失活作用,发现低频超声作用距离远长于高频超声,可以显著使肠杆菌失活,而高频超声无法灭活肠杆菌。

Mitragotri 早在 1995 年即提出超声介导下药物透入的机理,包括空化效应 (气泡的产生震动),对流传递,局部热效应 (温度增高) 和力学效应 (超声所致力学变化) 等。郭芳<sup>[7]</sup> 等也在其论著中叙述了低频超声的作用机制,并将其总结为空化效应和非空化效应。通过上述作用,超声波可以增加表皮、真皮等组织和细胞的通透性,强化药物吸收,有助于增加中药有效成分中大、中分子的吸收率,在传统外用法的基础上,借助物理和生物方法进一步改善疗效。另外,国内也有学者发现<sup>[8]</sup> 低频脉冲超声能够作用于关节软骨、关节囊和滑膜,将其作用机制总结为使局部毛细血管扩张,促进血液循环,改善细胞功能,加速体内化学反应,软化局部组织,增强胶体通透性,影响酶及生物活性物质的活性与含量,加强组织新陈代谢,调节组织酸碱度改善 pH 值,提高痛阈等,通过上述作用而达到治疗效果。

3.2 软骨组织病理学 KOA 最主要的发病机制是关节软骨的退行性改变<sup>[9-10]</sup>。软骨组织病理学最常用的是 Mankin's 评分,该评分中对软骨组织的结构、细胞、光镜下的染色以及潮线的完整性进行了分级和评价,在基础实验中使用广泛,具有很高的准确性<sup>[11-12]</sup>。应用这一评分,可以反映出软骨病变的程度 (0 ~ 1 分为正常软骨,1 ~ 5 分为轻度软骨损伤,6 ~ 9 分为中度软骨损伤,10 ~ 14 分为重度软骨损伤)。在实验中我们发现随着时间的发展,大鼠膝关节软骨组织学评分越来越高,显示了与时间的正相

关性,这是因为前交叉韧带的剪断改变了膝关节的生物力学,膝关节在失衡状态学每天进行足量的运动即可以诱导 KOA 的发生,而这种病理发展也与时间关系密切。超声促透组对于 2 周、4 周大鼠软骨组织病理学的改善作用比较明显,这一作用明显强于中药外敷组,光镜下观察到,对于此时软骨组织的改善,大多集中在软骨细胞,对于细胞的数量、大小、排列及染色等有不同程度的改善,但对于软骨的结构,如表面的裂隙、潮线的完整性则作用不大;此外,对于 8 周组大鼠无明显作用,这也正与肉眼观察软骨的结果一致,这可能是由于软骨基质的结构发生重塑、细胞发生完全变性后,普通方法难以阻止这一病理发展所致,而在其完全变性前,应用该疗法能够改善膝关节内环境,从而减缓软骨的退变、促进软骨细胞的修复。

**3.3 软骨基质相关降解产物** KOA 的主要病位在关节软骨,软骨组织包括软骨细胞和细胞外基质,其中细胞外基质约占 99%,主要是由 II 型胶原和蛋白多糖构成,这两种物质在 KOA 的发病过程中占有重要的地位;软骨中细胞外基质的合成与降解处于一个平衡的动态过程,一旦这种平衡被打破,其合成降解代谢不平衡,则会导致软骨变性,而这也是 KOA 发生的直接原因。II 型胶原羧基端肽 (CTX-II) 本身位于 II 型胶原羧基的末端,因此而得名,II 型胶原发生降解时产生出 II 型胶原羧基端肽,可以在尿液、血清等体液中检测到,具有较高的敏感度。Christgau S<sup>[13]</sup> 等通过观察骨关节炎患者尿液中 II 型胶原羧基端肽的含量,发现其具有较高的精确度,与正常人相比有明显意义,能够很好的监测关节软骨的新陈代谢。李昊<sup>[14]</sup> 等利用关节镜对 59 名 KOA 患者进行软骨损伤的分级,结果发现患者血清中 II 型胶原羧基端肽的含量与软骨损伤的程度成正相关,进一步验证了该物质对 KOA 的诊断价值。本实验中随着时间的推移,空白对照组大鼠血清中 CTX-II 含量呈增长趋势,说明软骨基质的降解进一步严重,而超声促透组可以很好的降低该物质的含量,在 2、4、8 周时均能够发挥作用,且这种作用要明显优于常规的中药外敷法,说明该疗法可能抑制或减缓了软骨基质的进一步破坏,降低了 II 型胶原的降解率。软骨寡聚基质蛋白 (COMP) 是软骨细胞外多糖蛋白的一种,是细胞外基质的重要组成部分,该物质含量的变化可以反映出软骨的破坏程度,目前对其研究较多。国外有学者<sup>[15]</sup> 对 KOA 患者血清中 COMP 的含量进行了研究,将患者膝关节 X 线片的 K-L 分级

与血清中 COMP 含量做比较,发现 COMP 含量与 X 线严重程度呈正相关,另外,该研究还发现 COMP 的含量患者滑膜炎症的程度呈正相关,但人体中 COMP 的含量并不稳定,目前只能作为骨关节炎的辅助诊断。本实验中,空白对照组大鼠在 2、4、8 周时 COMP 呈增长趋势,2、4 周时超声促透组大鼠血清 COMP 含量明显降低,且这一作用效果要强于中药外敷组,但 8 周时作用却不明显,这可能是由于病程较长,大鼠滑膜炎性反应减轻所致。基质金属蛋白酶-3 (MMP-3),是软骨基质降解过程中最重要物质之一,MMP-3 和 TIMP-1 的比例存在一定关系,这种关系的平衡保持着软骨的正常状态,但在某些致病因素的作用下,MMP-3 的含量增高,能够加速软骨基质的降解,因此,MMP-3 的含量可以间接反应出软骨损伤的状态,黄胜<sup>[16]</sup> 等发现家兔骨关节炎模型的关节液中,MMP-3 的含量与病程的发展呈正相关,张金山<sup>[17]</sup> 等也发现在 KOA 患者血清中 MMP-3 的含量与病情呈正相关,重度患者 MMP-3 的含量远大于轻、中度患者,这也与本实验结构相吻合,本实验中,随着大鼠 KOA 退变的程度增加,血清中 MMP-3 的含量也增加。但也有学者认为,MMP-3 的含量在软骨降解最活跃的时候最高,而在后期软骨破坏过多时含量反而下降。在实验中,超声促透组能够明显降低大鼠血清中 MMP-3 的含量,这种作用要强于中药外敷组,但主要体现在轻度和中度 KOA 大鼠模型。

本实验中我们发现低频超声促透通络止痛中药能够很好的减缓轻、中度 KOA 大鼠软骨的退变,降低大鼠血清中 II 型胶原羧基端肽 (CTX-II)、软骨寡聚基质蛋白 (COMP) 及基质金属蛋白酶-3 (MMP-3) 的含量,从而减缓或抑制软骨基质的过度降解,除了 II 型胶原羧基端肽 (CTX-II) 含量的降低出现在所有大鼠中,COMP 和 MMP-3 含量的降低主要体现在轻、中度大鼠模型中,能够从软骨基质这一角度解释低频超声促透通络止痛中药对于 KOA 的作用机制;而上述作用的效果均强于中药的普通外敷法。

#### 参考文献

- [1] Mitragotri S, Edwards DA, Blankschtein D, et al. A mechanistic study of ultrasonically enhanced transdermal drug delivery [J]. *PharmSci*, 1995, 84(6): 697-706.
- [2] 孙树椿, 王庆甫, 张军, 等. 超声电导透射通络止痛中药外治膝关节骨关节炎的临床观察 [A]. 中华中医药学会风湿病分会 2010 年学术会议论文集 [C], 2010: 138-140.
- [3] Stoop R, Buma P, van der Kraan PM, et al. TyPell collagen Degradation in articular cartilage fibrillation after anterior cruciate ligament

- transection in rats [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2001, 9(4): 308 - 315.
- [4] Lorenz H, Wenz W, Ivancic M, et al. Early and stable upregulation of collagen type II, Collagen type I and YKL40 expression levels in cartilage during early experimental osteoarthritis occurs independent of joint location and histological grading [J]. Arthritis Res Ther, 2005, 7(1): 156 - 165.
- [5] 杨远滨, 周万松. 低频超声的研究与应用进展 [J]. 现代康复, 2001, 5(10): 110 - 111.
- [6] Gao S, Hemar Y, Lewis GD, et al. Inactivation of Enterobacter aerogenes in reconstituted skim milk by high-and low-frequency ultrasound [J]. Ultrason Sonochem, 2013, 12(21): 8.
- [7] 郭芳, 胡兵. 低频超声的应用基础研究进展 [J]. 声学技术, 2012, 31(2): 198 - 203.
- [8] 唐进, 黄良库, 李东, 等. 低频脉冲超声治疗膝关节关节炎疗效分析 [J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(23): 2562 - 2564.
- [9] 刘颖, 杨少峰, 陈丽霞. 膝关节关节炎患者膝关节功能与生存质量的研究 [J]. 中国康复医学杂志, 2009, 24(12): 1092 - 1094.
- [10] 王丽华, 王丽霞, 任翠平. 非药物和药物综合治疗膝关节关节炎临床观察 [J]. 中国医药, 2013, 8(3): 369.
- [11] 方锐, 艾力江·阿斯拉, 卢勇, 等. 兔骨性关节炎模型构建及早中晚期的特点 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(7): 1218 - 1222.
- [12] 王云峰, 白人晓, 张扬, 等. 改良 Hulth 模型复制膝不同时期骨关节炎的实验研究 [J]. 天津医科大学学报, 2009, 15(3): 400 - 404.
- [13] Christgau S, Garnero P, Fledelius C. Collagen type II C-telopeptide fragments as an index of cartilage degradation [J]. Bone, 2001, 29(3): 209 - 15.
- [14] 李昊, 田峰. 骨关节炎患者血清中 II 型胶原羧基端肽的检测及临床意义 [J]. 山西医药杂志, 2008, 37(5): 415 - 417.
- [15] Vilím V1, Vytásek R, Olejárová M, et al. Serum cartilage oligomeric matrix Protein reflects the Presence of clinically diagnosed synovitis in Patients with knee osteoarthritis [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2001, 9(7): 612 - 618.
- [16] 黄胜, 李雄峰, 管国华, 等. 实验性骨关节炎 MMP-3 与软骨细胞凋亡 [J]. 中医正骨, 2010, 22(11): 19 - 21.
- [17] 张金山, 程园园, 刘健. 膝关节关节炎患者血清 MMP-3、TIMP-1 水平变化及相关性研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2012, 47(9): 1066 - 1069.

(2014-06-11 收稿 责任编辑:徐颖)

## 世界中医药学会联合会中医药文化专业委员会筹备会召开

2015年3月27日,在北京中医药大学召开了世界中医药学会联合会中医药文化专业委员会筹备工作会议,参加此次会议的有世界中医药学会联合会的领导,中医药文化专业委员会筹备组成员,以及各地中医药学术组织领导、各老字号药企领导共30多人。北京中医药大学国学院作为中医药文化专委会会长单位,主办了此次筹备会。会议由筹备会秘书长、健民集团总裁徐胜先生主持。世界中医药学会联合会学术部关涛主任介绍了世界中医药学会联合会专业委员会组织管理规定、筹备成立工作的程序,并且就一些关键性问题作了说明。

世中联中医药文化专业委员会筹备组组长、北京中医药大学国学院院长张其成教授作了筹备工作报告,他提出中医药文化是中医药精神文化、行为文化、物质文化的总和,具体研究领域包括中医药文化资源的挖掘、保护、利用与开发、中医药文化的学术研究人才培养、中医药文化的国际传播与应用。中医药文化资源十分丰厚,可分为地域中医药文化、中药企业中医药文化、中医院中医药文化、中医院校中医药文化、民族医药文化、儒释道医药文化等等。中医药文化专委会今后的工作任务将围绕上述领域开展学术交流、项目合作、人才培养、国内国际传播、

社会服务等。

针对张院长的报告与中医药文化专业委员会的筹备建设工作,与会专家纷纷发言,建言献策。国学院副院长李良松就佛医学问题在中医药文化传播中的重要性作了发言;北京市道教协会副会长王成亚道长就道医、道药的独特性作了发言;北京大学医学人文研究院赖立里女士就文化人类学与中医药文化的关系作了发言;上海中医药大学李海英副总编就中医药文化在海外的传播作了发言;澳大利亚首都中医健康中心董事长王海东就中医药文化在澳洲的推广作了发言;一些老字号药店的领导也就此表示了自己的决心,如天津中新医药集团达仁堂制药厂厂长李燕珏、山西广誉远国药有限公司董事长张斌、兰州众联医药有限公司唐继军董事长、吉林省恒爱医药董事长王怀伟等,大家一致认为,老字号药店的传承离不开中医药文化的引领,而世中联中医药文化专委会的成立,正好给各大药店、药厂的进一步发展提供了一个学术平台与交流平台,非常期待专委会能够如期顺利成立。

会议还讨论了中医药文化专业委员会人员构成及成员招募工作、成立大会会议计划及安排、未来工作规划等相关事宜。