

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.22.010

独活寄生汤联合结筋病灶点温针灸对膝骨关节炎患者氧化应激、软骨代谢指标和 NLRP3 炎症小体的影响*

王 闯¹ 刘 旭¹ 崔 亮² 陶世武² 杨宗宇^{2Δ}

(1 河北中医药大学研究生院 河北 石家庄 050091; 2 河北省沧州中西医结合医院骨科 河北 沧州 061000)

摘要 目的:分析独活寄生汤联合结筋病灶点温针灸对膝骨关节炎(KOA)患者氧化应激、软骨代谢指标和核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)炎症小体的影响。**方法:**采用随机数字表法将 135 例寒湿痹阻型 KOA 患者分为对照组(67 例,接受结筋病灶点温针灸治疗)、研究组(68 例,接受独活寄生汤联合结筋病灶点温针灸治疗)。对比两组 Lysholm 膝关节评分、西安大略和麦克马斯特大学骨关节炎指数(WOMAC)、血清氧化应激指标[超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)]、血清软骨代谢指标[II 型胶原羧基端肽(CTX-II)、蛋白聚糖(PG)、软骨寡聚基质蛋白(COMP)]、外周血单个核细胞 NLRP3 炎症小体信使核糖核酸(mRNA)的表达。**结果:**两组治疗后 Lysholm 膝关节评分、血清 SOD 升高,且研究组较对照组更高;WOMAC 评分、血清 MDA、COMP、CTX-II、PG、NLRP3 mRNA 表达、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)mRNA 表达、半胱天冬氨酸蛋白酶 1(caspase-1) mRNA 表达下降,且研究组较对照组更低($P<0.05$)。**结论:**独活寄生汤联合结筋病灶点温针灸治疗 KOA 患者,可减轻氧化应激,改善软骨代谢指标,抑制 NLRP3 炎症小体。

关键词:独活寄生汤;结筋病灶点温针灸;膝骨关节炎;氧化应激;软骨代谢;NLRP3 炎症小体

中图分类号:R684.3;R243 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2024)22-4240-03

Effects of Duhuo Jisheng Decoction Combined with Spot Warming Acupuncture and Moxibustion at Jiejin Focus on Oxidative Stress, Cartilage Metabolic Indicators and NLRP3 Inflammatory Bodies in Patients with Knee Osteoarthritis*

WANG Chuang¹, LIU Xu¹, CUI Liang², TAO Shi-wu², YANG Zong-yu^{2Δ}

(1 Graduate School of Hebei University of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang, Hebei, 050091, China; 2 Department of Orthopedics, Hebei Cangzhou Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Cangzhou, Hebei, 061000, China)

ABSTRACT Objective: To analyze the effects of duhuo jisheng decoction combined with needle warming moxibustion on oxidative stress, cartilage metabolism indexes and nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome in patients with knee osteoarthritis (KOA). **Methods:** The random number table method was used, 135 patients with KOA of cold-dampness obstruction type were divided into control group (67 cases, treated with warm acupuncture at the lesion point of the tendon), and study group (68 cases, treated with duhuo jisheng decoction combined with warm acupuncture at the lesion point of the tendon). The Lysholm knee score, western ontario and mcMaster universities osteoarthritis Index (WOMAC), serum oxidative stress indexes [superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA)], serum cartilage metabolism indexes [type II collagen carboxy terminal peptide (CTX-II), proteoglycan (PG), cartilage oligomeric matrix protein (COMP)], and the expression of NLRP3 inflammasome mRNA in peripheral blood mononuclear cells were compared between two groups. **Results:** Lysholm knee score and serum SOD increased in two groups, and study group was higher than those in control group after treatment. WOMAC score, serum MDA, COMP, CTX-II, PG, NLRP3 mRNA expression, apoptosis-related spot-like protein (ASC) mRNA expression, and caspase-1 mRNA expression decreased, and study group was lower than those in control group ($P<0.05$). **Conclusion:** Duhuo jisheng decoction combined with warm acupuncture and moxibustion at the focus of tendon knots in the treatment of KOA patients, which can reduce oxidative stress, improve cartilage metabolism indexes, inhibit NLRP3 inflammasome.

Key words: Duhuo jisheng decoction; Needle warming moxibustion; Knee osteoarthritis; Oxidative stress; Cartilage metabolism; NLRP3 inflammasome

Chinese Library Classification(CLC): R684.3; R243 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2024)22-4240-03

* 基金项目:河北省中医药管理局中医药类科研计划项目(2022594)

作者简介:王闯(1997-),男,在读硕士研究生,从事中西医结合治疗骨科方向的研究,E-mail: w15369808696@163.com

Δ 通讯作者:杨宗宇(1980-),男,博士,主任中医师,从事中西医结合治疗骨科方向的研究,E-mail: 15832781820@163.com

(收稿日期:2024-05-05 接受日期:2024-05-30)

前言

膝关节关节炎(KOA)是一种骨关节退行性病变,其发病机制涉及到氧化应激、软骨代谢和炎症刺激等多种病理因素^[1]。针对 KOA 的治疗,西医通常采用包括注射治疗、药物治疗和手术治疗等,但存在长期使用不良反应升高的风险^[2]。KOA 在中医属于"骨痹""膝痹"等范畴,以寒湿痹阻型较为常见,治疗主张活血化瘀、通络止痛;结筋病灶点温针灸具有疏通经络止痛、活血化瘀的功效,对治疗 KOA 具有较好的疗效,但单一应用效果有限^[3]。独活寄生汤是治疗寒湿痹阻型 KOA 常用药方,具有祛风除湿、补肝肾强筋骨之效^[4]。本研究观察独活寄生汤联合结筋病灶点温针灸对 KOA 患者氧化应激、软骨代谢指标和核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)炎症小体的影响,旨在为临床治疗提供数据支持。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取我院 2022 年 6 月-2023 年 6 月期间收治的 135 例寒湿痹阻型 KOA 患者。采用随机数字表法将患者分为对照组(67 例)、研究组(68 例)。对照组男 29 例、女 38 例;年龄 31~69 岁,平均(52.84±3.69)岁。研究组男 28 例、女 41 例;年龄 32~68 岁,平均 52.76±3.15 岁。两组一般资料对比未见统计学差异($P>0.05$)。诊断标准:(1)西医参考《骨关节炎诊疗指南(2018 年版)》^[5];(2)中医参考《膝关节骨性关节炎中医诊疗指南(2020 年版)》^[6]。纳入标准:(1)均为单侧发病,符合上述中西医诊断标准;(2)临床资料完整,已签署知情同意书。排除标准:(1)合并脏器功能(包括有肝、肾等)障碍患者;(2)其他原因引起的膝关节疼痛;(3)皮肤出现破损或者感染不能进行温针灸治疗者;(4)对塞来昔布胶囊过敏者。研究方案通过我院伦理学委员会批准。

1.2 治疗方法

对照组予以塞来昔布胶囊(国药准字 H20223018,规格:0.1 g)口服,推荐剂量为 200 mg,每日一次口服或 100 mg 每日

两次口服,同时接受结筋病灶点温针灸治疗,结筋点选择:髌内下、胫骨内髌棘、委阳次、阴陵上、阳陵泉次。操作方法:患者取坐位,常规消毒,选用一次性无菌针(0.3 mm×40 mm),于主穴针柄套上带孔小硬纸片并插上长 1.5 cm 的艾柱,行温针灸。1 天 1 次,连续治疗 5 d 后休息两天。治疗 3 周。研究组在结筋病灶点温针灸治疗基础上结合独活寄生汤治疗,独活寄生汤组成:防风、当归、茯苓、杜仲、生地黄、肉桂、党参、桑寄生、牛膝、秦艽、川芎、白芍、细辛、甘草各 6 g,独活 9 g。服用方法:每日 1 剂水煎至 200 mL,1 天 2 次分服,治疗 3 周。

1.3 观察指标

(1)治疗前后采用西安大略和麦克马斯特大学骨关节炎指数(WOMAC)、Lysholm 膝关节评分评估两组患者的膝关节功能。(2)取患者治疗前后空腹外周静脉血 6 mL,其中 3 mL 经离心分离血清,酶联免疫吸附法检测血清软骨代谢指标:软骨寡聚基质蛋白(COMP)、II 型胶原羧基端端肽(CTX-II)及蛋白聚糖(PG)、氧化应激指标超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)。(3)另外 3 mL 血液样本采用全血 RNA 提取试剂盒提取外周血中的总 RNA,采用 cDNA 第一链合成试剂盒将外周血总 RNA 反转录为 cDNA,采用荧光定量检测试剂盒对 cDNA 中 NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白(ACS)、半胱天冬氨酸蛋白酶 1(Caspase-1)的表达水平进行检测,NLRP3、ACS、Caspase-1 的表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值法表示。

1.4 统计学方法

采用 SPSS27.0 处理数据。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验。计数资料以例(率)表示,采用卡方检验。 $P<0.05$ 表明差异有统计学意义。

2 结果

2.1 量表评分、血清氧化应激及软骨代谢指标对比

两组治疗后 Lysholm 膝关节评分、血清 SOD 升高,且研究组较对照组更高;WOMAC 评分、血清 MDA、COMP、CTX-II、PG 下降,且研究组较对照组更低($P<0.05$),见表 1。

表 1 量表评分、血清氧化应激指标及软骨代谢指标对比($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of scale scores, serum oxidative stress and cartilage metabolism indexes($\bar{x}\pm s$)

Groups	Time point	WOMAC (scores)	Lysholm knee (scores)	SOD(U/mL)	MDA (mmol/L)	COMP	CTX-II	PG($\mu\text{g/mL}$)
Control group (n=67)	Before treatment	1254.87±82.84	67.71±5.26	85.26±7.21	78.42±6.93	5.34±0.71	471.23±38.64	8.25±0.63
	After treatment	819.26±71.83*	74.36±6.14*	96.38±6.73*	63.48±7.35*	3.78±0.68*	429.10±37.88*	6.18±0.45*
Study group (n=68)	Before treatment	1247.43±96.37	66.91±6.38	86.51±7.24	78.06±5.21	5.42±0.83	472.66±35.12	8.36±0.58
	After treatment	527.48±60.36** [¥]	85.53±7.55** [¥]	122.58±11.52** [¥]	50.29±8.14** [¥]	2.49±0.54** [¥]	361.39±29.08** [¥]	4.27±0.31** [¥]

Note: Compared with control group after treatment, [¥] $P<0.05$. Compared with same group before treatment, * $P<0.05$.

2.2 外周血单个核细胞 NLRP3 炎症小体 mRNA 表达对比

两组治疗后 NLRP3、ASC、caspase-1 mRNA 表达下降,且研究组较对照组更低($P<0.05$),见表 2。

3 讨论

中医认为关节疼痛是由气血失调,肝肾不足,气虚所致,故其治疗应以祛风、通络止痛、温经、补肝肾为原则;结筋病灶点温针灸将针刺与艾灸相结合,通过针体将热力传入穴位,发挥调节气血、疏通经络、防治疾病的作用^[7]。独活寄生汤主要由

生地黄、牛膝、独活、秦艽、杜仲、川芎、防风、茯苓、桑寄生、当归、肉桂、党参、白芍、细辛、甘草等组成,是治疗痹证的经典方剂^[9]。

表 2 外周血单个核细胞 NLRP3 炎症小体 mRNA 表达对比

Table 2 Comparison of NLRP3 inflammasome mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells

Groups	Time point	NLRP3mRNA	ASCmRNA	caspase-1mRNA
Control group(n=67)	Before treatment	0.89± 0.12	1.29± 0.16	0.83± 0.07
	After treatment	0.72± 0.14*	0.98± 0.15*	0.71± 0.09*
Study group(n=68)	Before treatment	0.88± 0.13	1.31± 0.14	0.82± 0.06
	After treatment	0.51± 0.12* [¥]	0.83± 0.17* [¥]	0.62± 0.08* [¥]

Note: Consistent with Table 1.

本次研究结果显示, KOA 患者采用结筋病灶点温针灸、独活寄生汤联合治疗,可改善患者膝关节功能,减轻氧化应激症状。结筋病灶点温针灸通过药物的局部刺激、药物的吸收代谢、经络传导及神经调节而发挥减轻疼痛作用,同时温针灸对于调养 KOA 患者机体元气,维持生命机能具有重要的作用,可激发经络之气,有效改善机体氧化应激状况^[9]。独活寄生汤中独活为君,蠲痹止痛,祛下焦风湿;臣以防风、秦艽祛风胜湿,生地黄、白芍、当归、川芎补血活血;细辛具有散寒、止痛之功效,肉桂助阳;杜仲、牛膝、桑寄生补精血,强筋骨,益肝肾。佐党参、茯苓健脾益气;甘草兼使调和诸药,全方重在祛风除湿、补肝肾,标本兼顾^[10]。

本次研究结果显示,独活寄生汤联合结筋病灶点温针灸治疗 KOA 患者,可有效改善软骨代谢指标和 NLRP3 炎症小体。温针灸可通过对下丘脑-垂体-卵巢-性腺轴进行调节,有效改善机体骨代谢。独活寄生汤的药效机制可通过影响神经-内分泌-骨代谢系统或免疫系统的信号转导通路,延缓软骨退变^[11]。现代医学认为^[12],由于关节软骨组织炎症反应导致软骨细胞增殖分化受到影响,软骨基质降解、丢失,从而促进 KOA 的发生发展。相关研究证实^[13],在 KOA 患者中,激活后的 NLRP3 炎症小体可诱导 ASC 和 caspase-1 等炎性因子的产生,加剧局部急性炎症反应。而现代药理研究显示,独活寄生汤中独活、防风、杜仲、党参、白芍、川芎、甘草均有良好的抗氧化应激、抗炎止痛的功效^[14]。基础研究表明^[15],温针灸能抑制炎症反应来保护关节软骨。

综上所述,独活寄生汤联合结筋病灶点温针灸治疗 KOA 患者,可减轻氧化应激,改善软骨代谢指标和 NLRP3 炎症小体。

参考文献(References)

[1] Primorac D, Molnar V, Rod E, et al. Knee Osteoarthritis: A Review of Pathogenesis and State-Of-The-Art Non-Operative Therapeutic Considerations[J]. Genes (Basel), 2020, 11(8): 854.
 [2] Brophy RH, Fillingham YA. AAOS Clinical Practice Guideline

Summary: Management of Osteoarthritis of the Knee (Nonarthroplasty), Third Edition [J]. J Am Acad Orthop Surg, 2022, 30(9): e721-e729.

[3] 翁晨祎. 结筋病灶点温针灸联合五马膏热敷治疗寒湿痹阻型膝骨关节炎的临床研究[D]. 广西中医药大学, 2023.
 [4] 赵世永, 徐文博, 陶家安. 独活寄生汤联合小针刀疗法治疗膝关节炎性骨性关节炎 60 例临床研究[J]. 江苏中医药, 2023, 55(4): 44-47.
 [5] 中华医学会骨科学分会关节外科学组. 骨关节炎诊疗指南(2018 年版)[J]. 中华骨科杂志, 2018, 38(12): 705-715.
 [6] 陈卫衡. 膝骨关节炎中医诊疗指南 (2020 年版)[J]. 中医正骨, 2020, 32(10): 1-14.
 [7] 依奥博. 温针结筋病灶点治疗寒湿型慢性非特异性腰痛临床研究[D]. 辽宁: 辽宁中医药大学, 2022.
 [8] 刘玉龙, 姚啸生, 戚晓楠, 等. 经典名方独活寄生汤处方考证及历史沿革分析[J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(10): 114-120.
 [9] 常天宇, 董宝强, 林星星, 等. "龙虎交战针法" 结合经筋刺法解结筋病灶点镇痛的操作探微 [J]. 针灸临床杂志, 2023, 39(4): 99-102.
 [10] 谷金玉, 李凯明, 林承宇, 等. 独活寄生汤治疗膝骨关节炎的 Meta 分析[J]. 世界中医药, 2023, 18(3): 355-360, 369.
 [11] 邹怡, 潘良, 蔡素芬, 等. 温针灸联合塞来昔布胶囊对膝骨关节炎患者骨代谢指标和血清 IL-6、IL-17、IL-18 水平的影响[J]. 现代生物医学进展, 2022, 22(06): 1074-1078.
 [12] 陈绍华, 季芳, 梁倩倩, 等. 独活寄生汤治疗膝骨关节炎的作用机制与临床研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2023, 57(12): 22-26.
 [13] Han X, Lin D, Huang W, et al. Mechanism of NLRP3 inflammasome intervention for synovitis in knee osteoarthritis: A review of TCM intervention[J]. Front Genet, 2023, 14: 1159167.
 [14] 廖禹程, 丁一, 王文军, 等. 基于网络药理学探讨独活镇痛的分子作用机制[J]. 中国药师, 2021, 24(1): 1-6.
 [15] 武永利, 李龙, 刘君伟, 等. 温针灸抑制 NLRP3 炎症小体激活改善兔膝骨关节炎的软骨损伤 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(20): 3202-3208.