

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.07.005 [http://www.crter.org]

洪汉刚, 张耀武, 牛清海, 方锐, 孟庆才. 维药买朱尼对关节软骨前炎性因子的影响[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(7):1162-1167.

维药买朱尼对关节软骨前炎性因子的影响*

洪汉刚¹, 张耀武¹, 牛清海², 方锐¹, 孟庆才¹

1 新疆维吾尔自治区中医医院, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

2 乌鲁木齐市米东区中医医院, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 831400

文章亮点:

- 1 实验复制的大鼠膝骨关节炎模型, 从大体及光镜下观察与骨关节炎关节软骨的病理形态学变化相一致, 说明模型复制成功。
- 2 实验结果证实, 维药买朱尼可以抑制炎性因子白细胞介素 1 β 的表达。
- 3 推测维药买朱尼可能是通过核因子 kappaB 的抑制而抑制了一氧化氮和环氧酶 2 的表达, 从而抑制了炎性因子白细胞介素 1 β 的表达, 这还需进一步的实验证实。

关键词:

组织构建; 软骨组织构建; 骨关节炎; 关节炎; 膝关节; 关节软骨; 前炎性因子; 白细胞介素 1 β ; 白细胞介素 1; 维药买朱尼; Mankin 评分; 软骨细胞; 省级基金; 组织构建图片文章

摘要

背景: 骨关节炎病理过程中, 白细胞介素 1 β 被认为是促进软骨基质降解和关节软骨破坏的最重要的细胞因之一。

目的: 观察白细胞介素 1 β 在关节软骨中的表达, 并观察维药买朱尼对其的影响。

方法: 将 40 只 SD 大鼠随机数字表法随机等分为模型对照组、维药买朱尼组、假手术组、正常对照组。模型对照组和维药买朱尼组采用改良 Hulth 造模法建立大鼠膝骨关节炎模型, 假手术组仅显露膝关节, 不切断韧带, 不切除内侧半月板。维药买朱尼组建模第 2 周开始灌胃维药买朱尼 10.31 mg/(kg·d), 模型组及假手术组大鼠均灌服等量生理盐水, 连续 4 周。

结果与结论: 模型组软骨退变程度明显重于维药买朱尼组, 模型组软骨大体评分及 Mankin 评分均明显高于维药买朱尼组($P < 0.05$), 模型组软骨细胞白细胞介素 1 β 的表达强度亦明显高于维药买朱尼组($P < 0.05$)。与正常对照组比较, 假手术组软骨大体评分、Mankin 评分及软骨细胞白细胞介素 1 β 差异无显著性意义($P > 0.05$)。结果说明, 维药买朱尼可以抑制关节软骨前炎性因子白细胞介素 1 β 的表达。

洪汉刚, 男, 1974 年生, 新疆维吾尔自治区尼勒克县人, 锡伯族, 1998 年新疆医科大学毕业, 主治医师, 主要从事中西医结合治疗骨与关节疾病方面的研究。

ylnlkhhg@163.com

通讯作者: 牛清海, 副主任医师, 乌鲁木齐市米东区中医医院, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市

831400

zqymqxj@163.com

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2013)07-01162-06

收稿日期: 2012-07-12

修回日期: 2012-11-09

(20120712001/W · W)

Effect of Uygur Medicine *Maizhuni* on inflammatory factors in the articular cartilage following osteoarthritis

Hong Han-gang¹, Zhang Yao-wu¹, Niu Qing-hai², Fang Rui¹, Meng Qing-cai¹

1 Traditional Chinese Medicine Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

2 Traditional Chinese Medicine Hospital of Midong District of Urumqi, Urumqi 831400, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Abstract

BACKGROUND: Interleukin-1 β is considered as an important cytokine for improvement of cartilage matrix degradation and destruction of articular cartilage during the pathological process of osteoarthritis.

Hong Han-gang, Attending physician, Traditional Chinese Medicine Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
yaowuz@yahoo.cn

Corresponding author: Niu Qing-hai, Associate chief physician, Traditional Chinese Medicine Hospital of Midong District of Urumqi, Urumqi 831400, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
zqymqxj@163.com

Supported by: the Key Technology Research and Development Program of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 200933126*

Received: 2012-07-12
Accepted: 2012-11-09

OBJECTIVE: To establish the expression of interleukin-1 β in the articular cartilage of osteoarthritis rats and to study the effect of Uygur Medicine *Maizhuni*.

METHODS: Forty healthy Sprague Dawley rats were randomly assigned into four groups: *Maizhuni* intervention group, model control group, shame operation group, and normal control group. Knee osteoarthritis models were established in the model control and *Maizhuni* intervention groups using modified Hulth method. In the sham operation group, only the knee was exposed with no ligament resection and medial meniscectomy. Rats in the *Maizhuni* intervention group were treated with Uygur Medicine *Maizhuni* (10.31 mg/(kg·d)) and those in the model control and sham operation groups were administrated with saline by gavage at week 2 after model establishment. The treatment was continued for 4 weeks.

RESULTS AND CONCLUSION: The degree of cartilage degeneration in the model control group was higher than that in the *Maizhuni* intervention group as observed by naked eye. General score and Mankin score in the model group were significantly higher than those in the *Maizhuni* intervention group ($P < 0.05$). There was significantly greater expression of interleukin-1 β in the chondrocytes of the model control group ($P < 0.05$). Sham operation group did not differ from the normal control group in general score, Mankin score and interleukin-1 β expression in the chondrocytes ($P > 0.05$). These findings indicate that Uygur Medicine *Maizhuni* may protect the articular cartilage by inhibiting the expression of interleukin-1 β .

Key Words: tissue construction; cartilage tissue construction; osteoarthritis; arthritis; knee; articular cartilage; proinflammatory factor; interleukin-1 beta; interleukin-1; Uygur medicine *Maizhuni*; Mankin score; chondrocytes; provincial grants-supported paper; tissue construction photographs-containing paper

Hong HG, Zhang YW, Niu QH, Fang R, Meng QC. Effect of Uygur Medicine *Maizhuni* on inflammatory factors in the articular cartilage following osteoarthritis. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(7): 1162-1167.

0 引言

骨关节炎是一种退行性病变, 表现为关节软骨纤维化、皴裂、溃疡、脱失的进行性关节软骨破坏及关节边缘骨赘形成, 并伴有不同程度的滑膜炎。骨关节炎的病理过程中, 既有退行性变, 又有关节形态学的修复, 这一过程受到体内多种蛋白分子如生长因子和细胞因子的调控^[1]。研究表明前炎症细胞因子白细胞介素1 β , 炎性递质一氧化氮在关节软骨的病理变化起重要作用^[2-3]。许多研究表明, 白细胞介素1 β 和肿瘤坏死因子 α 是关节炎病理过程中促进软骨基质降解和软骨破坏的最重要的两种因子^[4-5]。有研究在关节炎患者的关节液中发现高浓度的前炎症因子白细胞介素1 β 和肿瘤坏死因子1 α ^[6], 它们被认为是在关节炎发病机制中起关键作用的促炎症性细胞因子。

维医认为骨关节炎多属于黏液质。维药买朱尼是二级干热蜜膏制剂, 能够起到补益脑肾, 开通阻滞、缓解疼痛、燥湿、活血等作用, 适用于外来寒邪因素过多而发生的非体液型寒性气质失调疾病。买朱尼中主要成分西红花(番红花、藏红花), 属性为三级热, 有补益脑、心、胃, 强健筋骨, 暖体, 通阻, 醒神益智的功效^[7], 对治疗膝骨关节炎在临床有着很好的疗效。

实验探讨了维药买朱尼对骨关节炎大鼠关节软骨中前炎症因子白细胞介素1 β 的影响及作用机制, 为临床应用提供实验依据。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 于2011年12月至2012年5月在新疆医科大学第一附属医院动物实验中心完成。

材料:

维药买朱尼组成和制备: 主要成分包括巴旦杏仁、阿月浑子、肉豆蔻、毛诃子、余甘子、

西红花等各15 g。制备方法：按量取药，净化后将籽仁类药研碎过筛；西红花另细磨；其余诸药一并研磨成粉过筛；炼密去沫，趁热加入籽仁类药粉，待稍凉后加入西红花粉末，最后加入其他药粉，混合制成蜜膏。以上药物由新疆中医药大学附属医院制剂中心提供。

实验动物：取清洁级2月龄雄性健康SD大鼠40只(合计40个膝关节)，体质量(250±10) g，由新疆医科大学动物实验中心提供，许可证号SCXK(新)2003-0001，给予标准实验室动物饮食和饮水(新疆医科大学第一附属医院动物实验中心)，饲养温度为20-25℃，湿度为60%。

维药买朱尼抑制骨关节炎大鼠关节软骨前炎性细胞因子白细胞介素1β表达实验用主要试剂：

Main reagents for the experiment of inhibiting interleukin-1β in the articular cartilage of osteoarthritis rats using Uyghur Medicine Maizhuni:

试剂	来源
白细胞介素 1β 抗体	美国 Santa 公司
浓缩型胰蛋白酶消化液、兔 sp 通用检测试剂盒	武汉博士德公司
浓缩型 DAB 显色试剂盒	北京中杉金桥生物技术有限公司

实验方法：

动物分组：将40只大鼠按随机数字表法随机分为4组：分别是维药买朱尼组、模型对照组、假手术组、正常对照组，每组10只。实验经新疆医科大学一附院动物实验伦理委员会审核批准，实验过程中对动物处置符合动物实验伦理要求。

大鼠膝骨关节炎模型建立：参照文献[8-9]建立改良的Hulth模型：将动物麻醉后仰卧于手术台上，无菌条件下取膝关节内侧纵切口长约2 cm，显露膝关节，然后切断前交叉韧带及内侧副韧带，完整切除内侧半月板，保留关节软骨面，建模后不固定伤肢，自由活动，给予抗生素20×10⁴ U/d肌肉注射3 d，预防感染，建模后7 d驱赶动物在小动物跑台上奔跑，每日30 min，分2次驱赶，驱赶动物4周后即得明显的模型。假手术组仅显露膝关节，不切断韧带，不切除内侧半月板。

干预：维药买朱尼干预组自建模第2周开始灌胃，根据大鼠体质量换算出服药量为10.31 mg/(kg·d)^[10]，连续灌服4周。模型组及假手术组大鼠均灌服等量生理盐水。

标本制作及大体观察：将4组大鼠干预4周后，二氧化碳空气栓塞法处死大鼠，观察维药买朱尼组，模型对照组、假手术组、正常组膝关节软骨的大体变化。并进行评分，0分为关节面光滑，色泽如常；1分为关节面粗糙，

有小的裂隙且色泽灰暗；2分为关节面糜烂，软骨缺损深达软骨表中层；3分为关节面溃疡形成，缺损深达软骨深层；4分为软骨剥脱，软骨下骨暴露^[11]。

切片的制作和染色：取经固定的股骨内侧髁，修剪好后用自来水冲洗干净，放入100 g/L的硝酸脱钙处理，直至骨质变软，用锐利刀片切取软骨(包括软骨下骨)，修切成0.5 cm×0.4 cm×0.3 cm大小，经梯度乙醇，二甲苯脱水、透明，石蜡包埋切片，厚度为3 μm，苏木精-伊红染色，LeicaCTR6000显微镜观察切片。依据Makin等^[12]关节软骨改良Makin评分细则对切片标本进行评分，得分越高表明软骨退变越严重。

免疫组织化学SP法染色：脱蜡、水化；PBS洗两三次各5 min；体积分数3% H₂O₂(80%甲醇)滴加在TMA上，室温静置10 min；PBS洗两三次各5 min；抗原修复；PBS洗两三次各5 min；滴加正常山羊血清封闭液，室温20 min。甩去多余液体。滴加I抗，室温静4℃过夜；加B工作液，放置10 min，PBS洗3次各5 min；加C工作液，放置20 min，滴加II抗40-50 μL，室温静置；PBS洗3次各5 min；DAB显色5-10 min；PBS冲洗10 min；苏木精复染2 min，盐酸乙醇分化；自来水冲洗10-15 min；脱水、透明、封固、镜检。

大鼠关节软骨免疫组织化学染色评分标准：根据文献[13-14]的方法对大鼠关节软骨细胞进行评分，阅片由两位病理科专业医生独立完成，具体的方法：显微镜(×400倍)下随机选择6个视野，观察所选择区域白细胞介素1β阳性反应细胞(染色为棕黄色)并进行计数，并且对阳性染色细胞百分数(%)进行计分。

主要观察指标：①软骨标本大体评分。②软骨标本组织学评分。③免疫组织化学染色评分。

统计学分析：采用SPSS 17.0 for Windows统计软件处理数据。大体评分采用秩和检验，组织学评分和免疫组织化学积分比较采用单因素方差分析，组间分析采用Tukey检验，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示， $P < 0.05$ 差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 实验选用大鼠40只，实验过程无脱失，全部进入结果分析。

2.2 大鼠膝关节软骨标本大体评分结果 4组比较，差异有显著性意义($P=0.000 < 0.05$)。骨关节炎大鼠软骨破坏，见表1。

表 1 大鼠膝关节软骨大体评分结果

Table 1 General scores of rat knee joint cartilage in the four groups (n=10, score)

组别	软骨大体评分				
	0	1	2	3	4
模型对照组	0	1	5	4	0
假手术组	3	5	1	0	0
正常对照组	6	4	0	0	0
维药买朱尼	0	6	3	1	0

注: 模型对照组为大鼠膝骨关节炎模型组, 除正常对照组外, 各组大鼠关节软骨均有不同程度破坏, 4 组比较差异有显著性意义。

表 2 大鼠关节软骨改良 Makin 评分结果

Table 2 Modified Makin scores of rat knee joint cartilage in the four groups ($\bar{x}\pm s$, n=10, score)

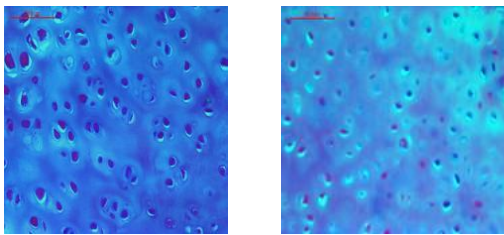
组别	改良 Makin 评分
模型对照组	2.80±1.20 ^b
假手术组	0.90±0.87
正常对照组	0.50±0.52
维药买朱尼组	1.90±0.95 ^{ab}
<i>P</i>	0.000

与模型对照组比较: ^a $P < 0.05$; 与假手术组比较: ^b $P < 0.05$ 。

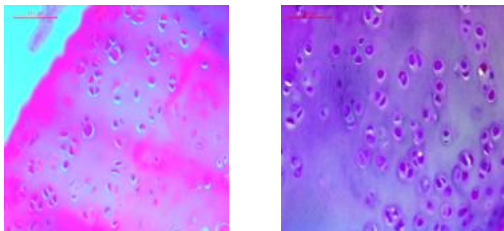
注: 模型对照组为大鼠膝骨关节炎模型组, 结果说明维药买朱尼组大鼠关节软骨改良 Makin 评分显著低于模型对照组, 显著高于假手术组和正常组。

2.3 大鼠膝关节软骨标本组织学评分 与模型对照组相比, 维药买朱尼组明显改良Makin评分明显降低($P < 0.05$); 与假手术组相比, 维药买朱尼评分高于假手术组($P < 0.05$); 与假手术组相比, 模型对照组评分较高见($P < 0.05$); 假手术组与正常对照组之间差异无显著性意义($P > 0.05$)。见图1, 表2。

2.4 各组大鼠关节软骨细胞白细胞介素 1 β 表达强度 维药买朱尼组大鼠免疫组织化学染色评分显著低于模型对照组($P < 0.05$), 显著高于与假手术组及正常对照组($P < 0.05$); 正常对照组、假手术组评分相差不大, 差异无显著性意义($P > 0.05$)。见图2, 表3。



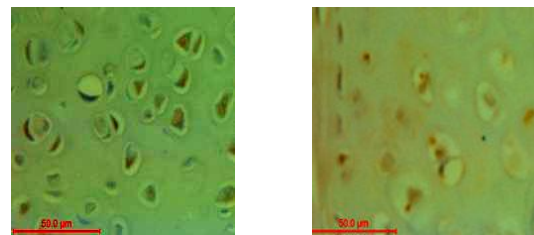
A: 膝骨关节炎模型大鼠膝关节软骨标本组织学评分明显高于其他 3 组
B: 假手术组大鼠膝关节软骨标本组织学评分与正常对照组之间差异无显著性意义



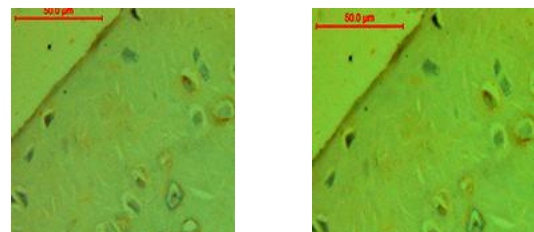
C: 正常对照组大鼠膝关节软骨标本组织学观察(苏木精-伊红染色)
D: 维药买朱尼组大鼠膝关节软骨标本组织学评分显著低于模型组

图 1 各组大鼠膝关节软骨标本组织学观察(苏木精-伊红染色, x400)

Figure 1 Histologic observation of rat knee joint cartilage samples in each group (Hematoxylin-eosin staining, x400)



A: 膝骨关节炎模型大鼠关节软骨细胞白细胞介素 1 β 表达强度明显高于其他 3 组
B: 假手术组大鼠关节软骨细胞白细胞介素 1 β 表达强度与正常对照组之间差异无显著性意义



C: 正常对照组大鼠关节软骨细胞白细胞介素 1 β 表达
D: 维药买朱尼组大鼠关节软骨细胞白细胞介素 1 β 表达强度显著低于模型组

图 2 各组大鼠关节软骨细胞白细胞介素 1 β 表达(x400)

Figure 2 Interleukin-1 β expression in rat knee joint chondrocytes (x400)

表3 大鼠关节软骨细胞白细胞介素1 β 表达强度Table 3 Expression of interleukin-1 β in rat knee joint chondrocytes ($\bar{x}\pm s$, $n=10$, score)

组别	白细胞介素1 β
模型对照组	4.60 \pm 1.17
假手术组	2.80 \pm 0.91
正常对照组	2.40 \pm 0.84
维药买朱尼组	3.40 \pm 0.84 ^{ab}
P	0.000

与模型对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与假手术组、正常对照组比较, ^b $P < 0.05$ 。

注: 模型对照组为大鼠膝骨关节炎模型组, 结果说明维药买朱尼组大鼠膝骨关节炎软骨细胞白细胞介素1 β 表达显著低于模型对照组, 显著高于假手术组和正常组。

3 讨论

白细胞介素1是有多种细胞产生的, 如巨噬细胞、软骨细胞、滑膜细胞等, 有白细胞介素1 α 和白细胞介素1 β 两种亚型, 主要以白细胞介素1 β 为主^[15]。白细胞介素1可抑制透明软骨特征性II、IX型胶原的合成, 促进I、III型胶原的合成, 改变和破坏软骨细胞周围环境使软骨的结构蛋白发生质的改变, 这在骨关节炎的发生中要比促进软骨基质的降解更有破坏性^[16]。白细胞介素1可通过刺激滑膜细胞产生胶原酶和酪蛋白酶、刺激软骨细胞产生金属蛋白酶, 从而促进软骨基质的降解; 可通过刺激滑膜细胞产生前列腺素E2和分泌血管细胞黏附分子1, 参与炎症反应, 可促进骨吸收及成骨细胞样细胞的增殖, 与骨关节炎的骨刺或骨唇形成以及软骨下骨的囊性变有关^[17]。

骨细胞和滑膜组织细胞、激活的滑膜细胞、单核细胞和关节软骨细胞均能够产生白细胞介素1 β 及在体实验均表明骨关节炎患者的滑膜细胞及软骨细胞可合成较高水平的白细胞介素1 β , 骨关节炎患者关节滑液中白细胞介素1 β 增高水平与关节软骨损伤呈正相关^[18]。同样遗传学研究也表明白细胞介素1 β 参与了骨关节炎的发病^[19]。

研究表明白细胞介素1 β 是在骨关节炎软骨丧失中起着重要作用的介质, 白细胞介素1 β 上调主要的细胞外水解酶, 例如基质金属蛋白酶和蛋白聚糖酶破坏了细胞外基质的产生与降解之间的平衡, 细胞外基质被大量降解, 软骨细胞周围的环境和胶原网络遭到了破坏, 从而导致骨关节炎的发生^[20]。研究认为白细胞介素1是介导

软骨破坏最直接的细胞因子^[21]。

另外有学者研究发现, 使用白细胞介素1 β 刺激的人关节软骨细胞, 基质金属蛋白酶1, 基质金属蛋白酶3和基质金属蛋白酶13蛋白的产生和释放水平均升高^[22]。国内有研究显示, 白细胞介素1 β 能显著增强培养的骨关节炎患者关节软骨细胞基质金属蛋白酶29活性, 且白细胞介素1 β 能够明显诱导基质金属蛋白酶13在软骨细胞中表达, 两者之间呈正相关剂量依赖关系^[23]。

诸多研究表明, 白细胞介素1与膝骨关节炎以上病理均密切相关, 抑制或减少白细胞介素1产生的药物能够缓解膝骨关节炎的症状, 减缓膝骨关节炎进展^[24]。苏友新等^[25]用壮骨健膝方(补骨脂、骨碎补、熟地黄、马钱子等)治疗膝骨关节炎, 研究表明, 该方能有效改善膝骨关节炎症状, 患者膝关节滑液中的白细胞介素1 β 水平较治疗前有非常明显的降低, 并分析认为这可能与该方对关节软骨起保护和修复作用有关。采用苗药荣筋汤治疗兔膝骨关节炎, 治疗后关节液中白细胞介素1 β 较治疗前降低^[26]。实验中维药买朱尼组白细胞介素1 β 的关节软骨评分低于模型对照组, 表明维药买朱尼能够阻止软骨中白细胞介素1的产生, 对白细胞介素1 β 的产生起到一定的抑制作用。

实验复制的大鼠膝骨关节炎模型, 从大体以及光镜下观察到关节充血、水肿、肥厚, 关节液量增多, 滑膜细胞增生活跃, 且有明显的炎细胞浸润, 软骨表面有不同程度的糜烂、缺损, 软骨细胞排列紊乱, 细胞减少。这些表现与骨关节炎的病理形态学变化相一致, 说明模型复制成功。

维药买朱尼可能是通过核因子kappaB的抑制而抑制了一氧化氮和环氧化酶2的表达, 从而抑制了炎症因子白细胞介素1 β 的表达。这还需要实验进一步去证实。白细胞介素1 β 是导致骨关节炎慢性进行性发展的核心因子, 在各种细胞因子网络的失衡中起关键作用。阻断和减弱骨关节炎中白细胞介素1 β 的生物学效应将为探讨和研究治疗骨关节炎的手段提供新的靶向。

基金资助: 新疆维吾尔自治区自治区科技支撑计划项目(200933126)。

作者贡献: 实验设计和实施为全部作者, 评估者为未参加实验操作的新疆医科大学第一附属医院病理科的病理专家, 采用盲法评估。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组

织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置符合 2009 年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献

- [1] Steven B, Abramson MA. Developments in the scientific understanding of osteoarthritis. *Arthr Res Ther.* 2009;11(3): 227.
- [2] de Isla NG, Stoltz JF. In vitro inhibition of IL-1 beta catabolic effects on cartilage: mechanism involved on diacylglycerol anti-OA properties. *Biorheology.* 2008;45 (3-4):433-438.
- [3] Jarvinen K, Vuolteenaho K, Nieminen R, et al. Selective iNOS inhibitor 1 400 W enhances anti-catabolic IL-10 and reduces destructive MMP-10 in OA cartilage. Survey of the effects of 1 400 W on inflammatory mediators produced by OA cartilage as detected by protein antibody array. *Clin Exp Rheumatol.* 2008;26(2):275-282.
- [4] Chikanza I, Fernandes L. Novel strategies for the treatment of osteoarthritis. *Expert Opin Investig Drugs.* 2000;9(7):1499.
- [5] Sandra K, Leo ABJ, Alison MB, et al. Different roles of tumour necrosis factor and interleukin-1 β in murine streptococcal cell wall arthritis. *Cytokine.* 1998;10:690-702.
- [6] Hussein MR, Fathi NA, El-Din AM, et al. Alterations of the CD4(+), factor-alpha and soluble intercellular adhesion molecule-1 in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: preliminary observations. *Pathol Oncol Res.* 2008;14(3):321-328.
- [7] Meng QC, Fang R, Wang YJ, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu.* 2006,10 (35):33. 孟庆才, 方锐, 王拥军, 等. 维药买朱尼对膝骨性关节炎大鼠关节软骨中 Fas 及 FasL mRNA 表达的调节效应[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2006,10 (35):33.
- [8] Rogart JN, Barrach HJ, Chichester CO. Articular collagen degradation in the Hulth-Telhag model of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 1999;7(6):539-547.
- [9] Hu AW, Zhang L, Lv JF, et al. *Zhongguo Zhongyi Gushing Ke Zazhi.* 2007;15(2):42-44. 胡阿威, 张磊, 吕建芳, 等. 复方健骨汤治疗骨关节炎的实验研究[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2007,15(2):42-44.
- [10] Felson DT, Zhang Y. An update on the epidemiology of knee and hip osteoarthritis with a view to prevention. *Arthritis Rheum.* 1998;41(8):1343-1355.
- [11] Pelletier JP, Jovanovic D, Fernandes JC, et al. Reduced progression of experimental osteoarthritis in vivo by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase. *Arthritis Rheum.* 1998;41(7):1275-1286.
- [12] Mankin HJ, Doffman H, Lippie Ho L, et al. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg.* 1971; 53: 523-537.
- [13] Ota H, Igarashi S, Sasaki M, et al. Distribution of cyclooxygenase-2 in eutopic and ectopic endometrium in endometriosis and adenomyosis. *Hum Reprod.* 2001; 16(3): 561-566.
- [14] Pelletier JP, Lascau-Coman V, Jovanovic D, et al. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase in experimental osteoarthritis is associated with reduction in tissue levels of catabolic factors. *J Rheumatol.* 1999;26(9): 2002-2014.
- [15] Chin LE, Krzesicki R, Hatfield CA, et al. Regulation of expression of IL-1 receptor antagonist protein in human synovial and dermal fibroblasts. *J Immunology.* 1993;150: 4008-4018.
- [16] Dingle JT, Honer A, Shield M. The sensitivity of synthesis of human cartilage matrix to inhibition by IL-1 suggests a mechanism for the development of osteoarthritis. *Cell Biochem Funct.* 1991; 9(2):99-102.
- [17] Lindsley HB, Smith DD, Cohick CB, et al. Proinflammatory cytokines enhance human synovial cell expression of functional intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1). *Clin Immunol Immunopathol.* 1993; 68(3):311-320.
- [18] Marks PH, Donaldson ML. Inflammatory cytokine profiles associated with chondral damage in the anterior cruciate ligament deficient knee. *Arthroscopy.* 2005; 1:1342-1371.
- [19] Daheshia Yao. The interleukin 1 β pathway in the pathogenesis of osteoarthritis. *J Rheum.* 2008;35:2306-2312.
- [20] Yagi R, MeBurney D, Laverty D, et al. Intra-joint comparisons of gene expression patterns in human osteoarthritis suggest a change in chondrocyte phenotype. *J Orthop Res.* 2005;23: 1128-1138.
- [21] Xie HJ, Du LY. *Chongqing Yixue.* 2011;40(4): 395. 谢辉晋, 杜远立. 骨关节炎相关细胞因子作用机制研究进展[J]. *重庆医学*, 2011,40(4): 395.
- [22] Fan Z, Bau B, Yang H, et al. Freshly isolated osteoarthritic chondrocytes are catabolically more active than normal chondrocytes but less responsive to catabolic stimulation with interleukin-1 β . *Arthritis Rheum.* 2005;52:136-143.
- [23] Wu HK, Li RH. *Zhongguo Laonianxue Zazhi.* 2008;8: 1550-1553. 巫栢猷, 李荣亨. 白介素-1在骨关节炎发病机制中的作用[J]. *中国老年学杂志*, 2008,28(8):1550-1553.
- [24] Xu DH. *Yaohue Fuwu yu Yanjiu.* 2005,5(1):231. 徐东红. 白介素与骨关节炎[J]. *药学服务与研究*, 2005,5(1):231.
- [25] Su YX, Chen SY, Lin QJ, et al. *Fujian Zhongyi Xueyuan Xuebao.* 2006;16(2):38. 苏友新, 陈顺有, 林清坚, 等. 壮骨健膝方对膝骨性关节炎患者关节滑液细胞因子、NO 的影响[J]. *福建中医学院学报*, 2006,16(2):38.
- [26] Yan J, Jie XG, Meng J, et al. *Zhongguo Zhongyi Gushang Zazhi.* 2009,17(7):5-6. 燕军, 节晓光, 孟江. 苗药荣筋汤治疗兔 KOA IL-1 β 、TNF- α 水平观测[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2009,17(7):5-6.