

陈丽川,段波,喻昭,等. 穴位埋线通过 PD-1/OX40 信号通路影响类风湿关节炎的炎症水平 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33 (10): 8-14, 80.

Chen LC, Duan B, Yu Z, et al. Acupoint catgut embedding affects the level of inflammation in rheumatoid arthritis through the PD-1/OX40 signaling pathway [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(10): 8-14, 80.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.10.002

穴位埋线通过 PD-1/OX40 信号通路影响类风湿关节炎的炎症水平

陈丽川*, 段波, 喻昭, 马志毅, 孟倩文

(武汉市中医医院 风湿病科针灸科, 武汉 430050)

【摘要】 目的 本实验研究穴位埋线通过调控 PD-1/OX40 信号通路抗类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 的作用及其机制。**方法** 取 25 只 SD 雌性大鼠, 用完全弗氏佐剂进行诱导, 建立 RA 模型大鼠, 然后进行穴位埋线和药物治疗, 将大鼠分成 5 组: 对照组、模型组、来氟米特组、穴位埋线组和穴位埋线+来氟米特组, 通过评价关节炎指数判断炎症程度; ELISA 检测血清白细胞介素-6 (interleukin 6, IL-6) 和白细胞介素-8 (interleukin 8, IL-8) 的含量; HE 染色观察滑膜炎性细胞浸润、滑膜组织、纤维组织、巨噬细胞增生及血管形成等情况; 流式检测 PD-1/OX40 及 CD4⁺CD28⁺ 细胞含量。**结果** 除对照组外, 各组大鼠踝关节至跖骨处或掌关节出现红斑和中度肿胀, 在 14 d 以后模型组评分没有明显的变化, 而来氟米特组、穴位埋线组和穴位埋线+来氟米特组炎症因子评分开始下降, 其中穴位埋线+来氟米特组下降最快。模型组血清中 IL-6、IL-8 的含量显著升高 ($P<0.01$), 来氟米特组、穴位埋线组和穴位埋线+来氟米特组大鼠血清中 IL-6、IL-8 的含量显著下降 ($P<0.01$)。模型组大鼠滑膜组织遭到破坏, 有大量的炎症细胞浸润, 血管扩张, 纤维细胞增生, 在进行来氟米特和穴位埋线处理后大鼠滑膜组织中炎症细胞浸润明显降低, 血管增生被抑制, 且在来氟米特和穴位埋线共同作用时效果最明显。模型组中大鼠的 PD-1 表达增加, OX40 表达显著降低 ($P<0.01$), CD4 和 CD28 表达显著升高 ($P<0.01$), 来氟米特组、穴位埋线组和穴位埋线+来氟米特组大鼠的 OX40 的表达显著增加, CD4、CD28 和 PD-1 表达显著下降 ($P<0.01$)。**结论** 穴位埋线能够改善 RA 症状, 并且与来氟米特具有联合治疗的作用, 其作用机制可能与 PD-1/OX40 信号通路有关。

【关键词】 穴位埋线; 类风湿关节炎; PD-1; OX40

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 10-0008-07

Acupoint catgut embedding affects the level of inflammation in rheumatoid arthritis through the PD-1/OX40 signaling pathway

CHEN Lichuan*, DUAN Bo, YU Zhao, MA Zhiyi, MENG Qianwen

(Department of Acupuncture and Moxibustion, Department of Rheumatology, Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430050, China)

【Abstract】 Objective We studied the effect and mechanism of acupoint catgut embedding on rheumatoid arthritis (RA) by regulating the PD-1/OX40 signaling pathway. **Methods** Twenty-five SD female rats were treated with complete Freund's adjuvant to establish the RA model. Rats were divided into control, model, Leflunomide, acupoint catgut embedding, and acupoint catgut embedding + Leflunomide groups. The degree of inflammation was determined by the arthritis index. Serum interleukin 6 (IL-6) and interleukin 8 (IL-8) levels were measured by ELISA. HE staining was used to observe infiltration of synovial inflammatory cells, synovial tissue, fibrous tissue, macrophage proliferation, and

[基金项目] 湖北省卫生健康委员会项目 (ZY2019M053)。

[作者简介] 陈丽川 (1977—), 男, 硕士, 主治医师, 研究方向: 中西医结合治疗风湿免疫学。E-mail: whxiaochozi@163.com

angiogenesis. Proportions of PD-1/OX40 and CD4⁺CD28⁺ cells were determined by flow cytometry. **Results** Except for the control group, rats in each group had erythema and moderate swelling from the ankle joint to the metatarsal bone or palm joint. After 14 days, the scores of the model group did not change significantly. Scores of inflammatory factors in the catgut embedding + Leflunomide group began to decrease, and those in the acupoint catgut embedding + Leflunomide group decreased the fastest. Serum levels of IL-6 and IL-8 in the model group were significantly increased ($P<0.01$), whereas serum levels of IL-6 and IL-8 in Leflunomide, acupoint catgut embedding, and acupoint catgut embedding + Leflunomide groups were significantly decreased ($P<0.01$). The synovial tissue of model group rats was damaged with a large amount of inflammatory cell infiltration, vascular dilation, and fibrous cell proliferation. After treatment with leflunomide and acupoint catgut embedding, inflammatory cell infiltration in synovial tissue was significantly reduced and vascular proliferation was inhibited. The effect was most significant when leflunomide and acupoint catgut embedding were combined. In the model group, PD-1 expression was increased, while OX40 expression was significantly reduced ($P<0.01$). CD4 and CD28 expression was significantly increased ($P<0.01$). OX40 expression was significantly increased in Leflunomide, acupoint catgut embedding, and acupoint catgut embedding + Leflunomide groups, while CD4, CD28, and PD-1 expression was significantly decreased ($P<0.01$). **Conclusions** Acupoint catgut embedding improves RA symptoms and has a combined therapeutic effect with leflunomide. Its mechanism may be related to the PD-1/OX40 signaling pathway.

[Keywords] acupoint catgut embedding; rheumatoid arthritis; PD-1; OX40

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)作为一种常见的炎症性关节炎,主要表现为关节疼痛和僵硬,伴随终生的发病率在世界范围内高达 1%^[1],其诊断标准包括至少一个关节有明确的肿胀^[2]。RA 的主要特征是炎症途径导致的关节滑膜细胞增殖,形成的血管翳可能导致软骨的破坏和骨质的侵蚀,促炎因子大量产生更加促进了这一过程的发生^[3]。在 RA 患者治疗中,两种或两种以上的抗风湿药物联合治疗比单药治疗更有效,但是两种以上的生物制剂的使用会带来很大的不良反应风险。

穴位埋线(acupoint catgut embedding, ACE)是现代针灸的一种,是指用无菌镊子将肠线(1.0~1.5 cm)放入一次性无菌针的针尖,肠线与针尖内缘平行,针头随针用钝针,将消毒过的针头插入消毒过的穴位,将针刺针推入片刻,取出无菌针,将肠线留在穴位^[4-5]。穴位埋线结合了针灸和穴位的优点,对穴位和机体产生全面持久的作用,此方法价格低廉,疗效持久,临床上被广泛应用。研究证明,在与炎症反应有关的急性呼吸窘迫综合征研究中,通过穴位埋线治疗降低了白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)水平,抑制了促炎细胞因子的产生^[6]。Lu 等^[7]总结发现,在治疗以肠道炎症为主的溃疡性结肠炎疾病中,通过穴位埋线治疗效果更持久,愈合所需时间更短。目前也有很多研究通过穴位埋线能够有效治疗 RA,但是对其机制研究尚不明确。

此外,程序性死亡受体 1(programmed death-1, PD-1)信号缺失或被阻断可以导致一系列自身免疫

性疾病,而肿瘤坏死因子受体超家族成员 4(tumor necrosis factor receptor superfamily member 4, OX40)信号敲除或被阻断则对自身免疫性疾病有治疗作用。PD-1 和 OX40 共刺激信号失衡可促进 RA 疾病的进展^[8]。因此,本研究通过建立 RA 模型大鼠,对大鼠穴位埋线和给药治疗,从炎症因子、滑膜形态以及流式检测 PD-1/OX40 及分化决定簇抗原 4(CD4)/T 细胞特异性表面糖蛋白(CD28)细胞含量方面,进一步探讨穴位埋线在 RA 中可能作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SD 大鼠,SPF 级,雌性,8 周龄,体重 150~180 g,共 25 只,来源于三峡大学[SCXK(鄂)2022-0012],在武汉华联科生物技术有限公司无特定病原体(specific pathogen free,SPF)条件下饲养[SYXK(鄂)2018-0104]。所有动物实验均由华联科生物技术有限公司伦理委员会审批(HLK-20200110-001)。实验过程严格按照 3R 原则给予人道关怀。

1.2 主要试剂与仪器

来氟米特(上海阿拉丁生化科技股份有限公司, L129518);戊巴比妥钠和完全弗氏佐剂(美国 sigma 公司, P3761/F5881);IL-6 和白细胞介素-8(interleukin 8, IL-8)ELISA 试剂盒(武汉贝茵莱生物科技有限公司, RA20607);二甲苯(北京沃凯生物科技有限公司, 40091060);苏木素和伊红(北京碧云天生物科技有限公司, C0107 和 C0109);大鼠全血

单个核细胞分离液 KIT(上海微科生物技术有限公司,LDS1080);所有抗体 PD1 (PAB47902)、OX40 (PAB47968)、GAPDH (PAB36269) 和 Goat anti-Rabbit IgG (SAB43714)均购自武汉贝茵莱生物科技有限公司。可吸收缝合线(上海浦东金环医疗,66V1228A);埋线针(高冠医械,20162271059);酶标仪(芬兰雷勃,MK3);电泳仪(Bio-Rad,mini protean 3 cell);全自动化学发光分析仪(上海天能,Tanon-5200);流式细胞仪(艾森,NovoCyte);倒置荧光显微镜(Leica 公司,MIL LED)。

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组

将动物按照随机数字表(由 SPSS17.0 程序生成)随机分为 5 组,每组 5 只。对照(control)组:造模后第 10 天开始予以等剂量生理盐水灌胃,连续 42 d。模型(model)组:造模后第 10 天开始予以等剂量生理盐水灌胃,连续 42 d。来氟米特(Leflunomide)组:造模后第 10 天开始予以大鼠灌胃来氟米特量为 10 mg/(kg·d),灌胃剂量 1 mL/100 g,连续 42 d。穴位埋线(acupoint catgut embedding, ACE)组:按照上述造模过程,造模后第 10 天进行穴位埋线,处理 42 d,埋线 3 次。穴位埋线+来氟米特(ACE+ Leflunomide)组:造模后第 10 天开始予以大鼠灌胃来氟米特量为 10 mg/(kg·d),灌胃剂量 1 mL/100 g,连续 42 d,并进行上述穴位埋线操作。

1.3.2 模型构建

将各组大鼠右后足趾皮下注射完全弗氏佐剂(complete Freund's adjuvant,CFA)0.1 mL 致炎。其中对照组按照造模过程注射等量 PBS。

1.3.3 穴位埋线

实验前动物禁食不禁饮 12 h。以 3%戊巴比妥钠麻醉大鼠。背部、右后腿剃毛后消毒备用。参照文献进行穴位埋线^[9],定位双侧“足三里”“肾腧”。“肾腧”位于第二腰椎下两旁,左右各一穴,“足三里”位于膝关节后外侧,在腓骨小头下约 5 mm 处。将大鼠俯卧位固定,将 9 号针头(含 0.8 cm 长无菌羊肠线),刺入已消毒的双侧“足三里”和“肾腧”,将肠线完全置入穴内。操作完成后使用碘伏消毒创面。

1.3.4 取材

用 3%戊巴比妥钠麻醉大鼠,取抗凝新鲜全血用于细胞流式检测;血清用于 ELISA 检测;滑膜组织用于病理 HE 染色。

1.3.5 关节炎指数

参照前期方法^[9],每 7 d 对大鼠进行关节炎评分。其标准见表 1。

1.3.6 炎症因子检测

采用 ELISA 试剂盒测定大鼠血清中的 IL-6 和 IL-8 水平,其测定步骤严格按照按照试剂盒说明书进行,通过标准品的稀释,加样,加酶及温育,洗涤,显色,最终加入终止液,在 450 nm 波长依序测量各孔的吸光度,计算 IL-6 和 IL-8 的浓度。

1.3.7 滑膜组织病理检测

将样本经过脱钙、浸蜡及包埋、切片(3 μm)、烤片后进行 HE 染色,并采集样本相关部位。根据炎症滑膜中的三大类细胞群(定居细胞群、迁移细胞群和内膜细胞群)对 HE 染色进行定量评分^[10]。评分范围依次为 0 分(正常)、1 分(轻度)、2 分(中度)、3 分(重度)。将 3 种炎症特征的参数进行汇总,总分 0~1 分表示正常,炎症级别为 0;总分 2~3 分为轻度滑膜炎,炎症级别为 1;总分 4~6 为中度滑膜炎,炎症级别为 2;总分 7~9 分为重度滑膜炎,炎症级别为 3。

1.3.8 流式检测

分离大鼠外周血单个核细胞进行流式检测。取各组样本,1×10⁶ 个细胞,100 μL PBS 重悬后,每管加入 2 μL OX40-APC、CD4-PerCP-eFluor 710 和 CD28-PE 抗体,4℃避光孵育 30 min;加入 2 mL PBS 洗涤 1 次,4℃ 400 r/min,离心 5 min,弃上清液;加入 1 mL 4%多聚甲醛室温固定 30 min;用 1 mL PBS 洗 2 次,每次 3 min,弃去 PBS;加入 200 μL 用 PBS 1:200 稀释后的抗体 PD-1,室温孵育 1 h,用 1 mL

表 1 关节炎评分标准
Table 1 Arthritis scoring standard

状态 Status	分值 Score
正常 Normal	0
踝或腕关节出现轻微红斑、肿胀 Slight erythema and swelling of ankle or wrist	1
后足踝关节及跗骨出现红斑和肿胀 Erythema and swelling of ankle joint and tarsal bone of posterior foot	2
踝关节至跖骨处或掌关节出现红斑和中度肿胀 Erythema and moderate swelling from ankle to metatarsal or metacarpal joints	3
踝关节至跖骨处严重肿胀和红斑,且不能负重 Severe swelling and erythema from ankle to metatarsal and no weight bearing	4

PBS 洗 2 次,每次 5 min,弃去 PBS;加二抗稀释液:加入 200 μ L 用 PBS 1 : 200 稀释后的二抗,37 $^{\circ}$ C,孵育 1 h;用 1 mL PBS 洗 2 次,每次 5 min,弃去 PBS;400 μ L 的 PBS 重悬细胞,4 $^{\circ}$ C 避光保存,上机检测,使用 NovoCyte 分析软件分析实验结果。

1.3.9 Western blot

取各组样本,采用蛋白抽提试剂盒提取不同组别细胞总蛋白。采用 BCA 法测定蛋白浓度。采用 SDS-PAGE 电泳分离总蛋白,每道孔上样 50 μ g 总蛋白质。电泳 2 h 后,采用湿法转膜至 PVDF 膜,将膜用 5%脱脂奶粉封闭 1 h,4 $^{\circ}$ C 孵育一抗 PD1 (1 : 1000)、OX40 (1 : 1000) 过夜,次晨采用 TBST 漂洗

膜,加入 HRP 标记的二抗 Goat anti-Rabbit IgG (1 : 20 000),37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h,ECL 显影,保存图像,采用 Quantity One 侧光密度值。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析,计量资料采用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较使用单因素方差分析,两组间比较采用 LSD 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 模型鉴定

对照组大鼠的足均正常(图 1),跖骨和足骨形

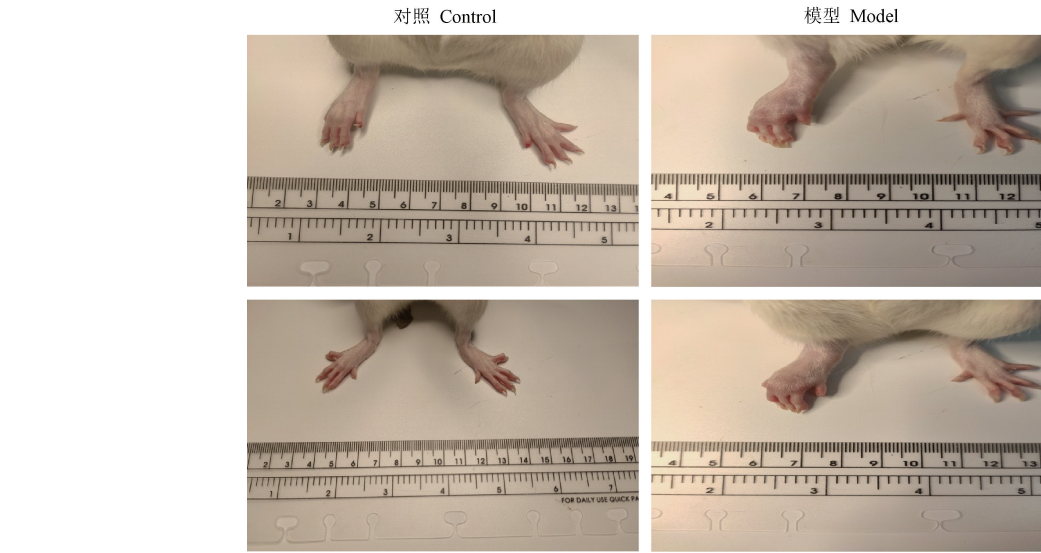
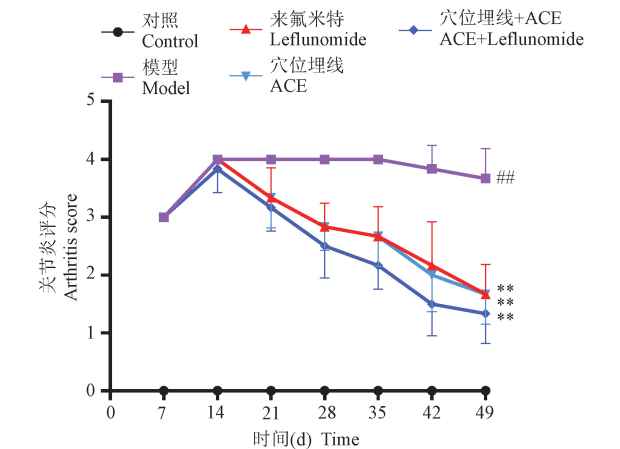


图 1 大鼠模型的鉴定
Figure 1 Identification of rat model

态规则,而模型组大鼠右后足出现明显红肿,炎症严重,跖骨和足骨出现多处红斑,足趾明显肿胀,大鼠行走受限。此模型构建成功。

2.2 关节炎指数

在大鼠免疫后每 7 d 进行 1 次关节炎评分,结果如图 2 所示,在第 7 天除对照组外,各组大鼠踝关节至跖骨处或掌关节出现红斑和中度肿胀,在第 14 天时除对照组外,各组大鼠炎症加重,炎症因子评分均在 3 分以上,在 14 d 以后模型组评分没有明显的变化,但是来氟米特组、穴位埋线组和穴位埋线+来氟米特组炎症因子评分开始下降。在第 49 天时,与对照组比较,模型组炎症因子评分显著升高;与模型组比较,来氟米特组、穴位埋线组和穴位埋线+来氟米特组炎症因子评分明显下降,且穴位埋线+来氟米特组最低。



注:与对照组相比,### $P < 0.01$;与模型组相比,** $P < 0.01$ 。
Figure 2 Arthritis index of each group
Note. Compared with control group, ### $P < 0.01$. Compared with model group, ** $P < 0.01$.

2.3 血清中炎症因子水平

模型组与对照组比较(图 3),大鼠血清中 IL-6、IL-8 含量均显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,来氟米特组、穴位埋线组和穴位埋线+来氟米特组大鼠血清中 IL-6、IL-8 的含量均显著下降($P<0.01$)。

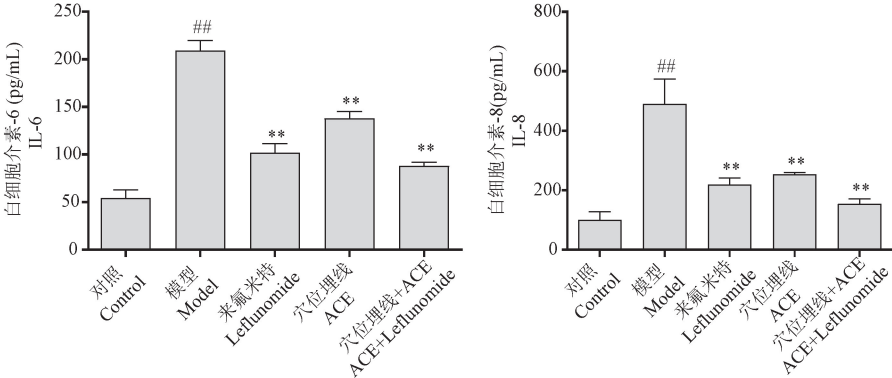
2.4 组织病理形态观察

对大鼠滑膜组织进行 HE 染色(图 4),结果发现,对照组大鼠的关节滑膜组织结构和形态正常,模型组大鼠滑膜组织遭到破坏,有大量的炎症细胞浸润,血管扩张,纤维细胞增生,在进行来氟米特和穴位埋线处理后大鼠滑膜组织中炎症细胞浸润明显降低,血管增生被抑制,且在来氟米特和穴位埋

线共同作用时效果最明显。此外,与对照比较,模型组评分显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,来氟米特组、穴位埋线组和穴位埋线+来氟米特组评分显著降低($P<0.01$)。

2.5 流式检测

流式检测的大鼠血中 PD-1/OX40 及 CD4/CD28 细胞含量(图 5),与对照组比较,模型组中大鼠的 PD-1 和 CD4/CD28 细胞含量显著增加($P<0.01$),OX40 显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,穴位埋线组和穴位埋线+来氟米特组的 PD-1 和 CD4/CD28 细胞含量显著降低($P<0.01$),OX40 显著增加($P<0.05$)。如图 6 所示,通过 Western blot

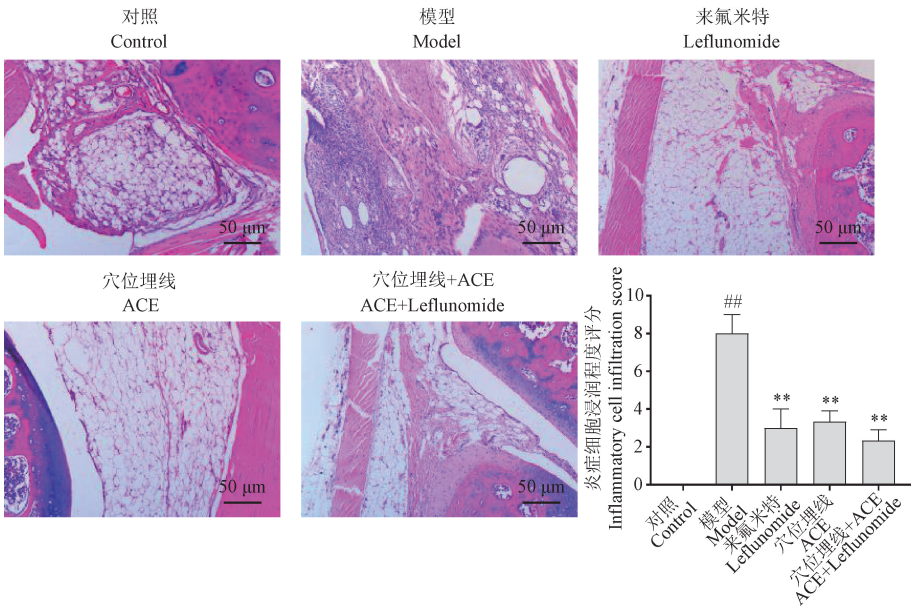


注:与对照组相比, ^{##} $P<0.01$;与模型组相比, ^{**} $P<0.01$ 。

图 3 各组大鼠血清中 IL-6、IL-8 的含量

Note. Compared with control group, ^{##} $P<0.01$. Compared with model group, ^{**} $P<0.01$.

Figure 3 Contents of IL-6 and IL-8 in serum of rats in each group

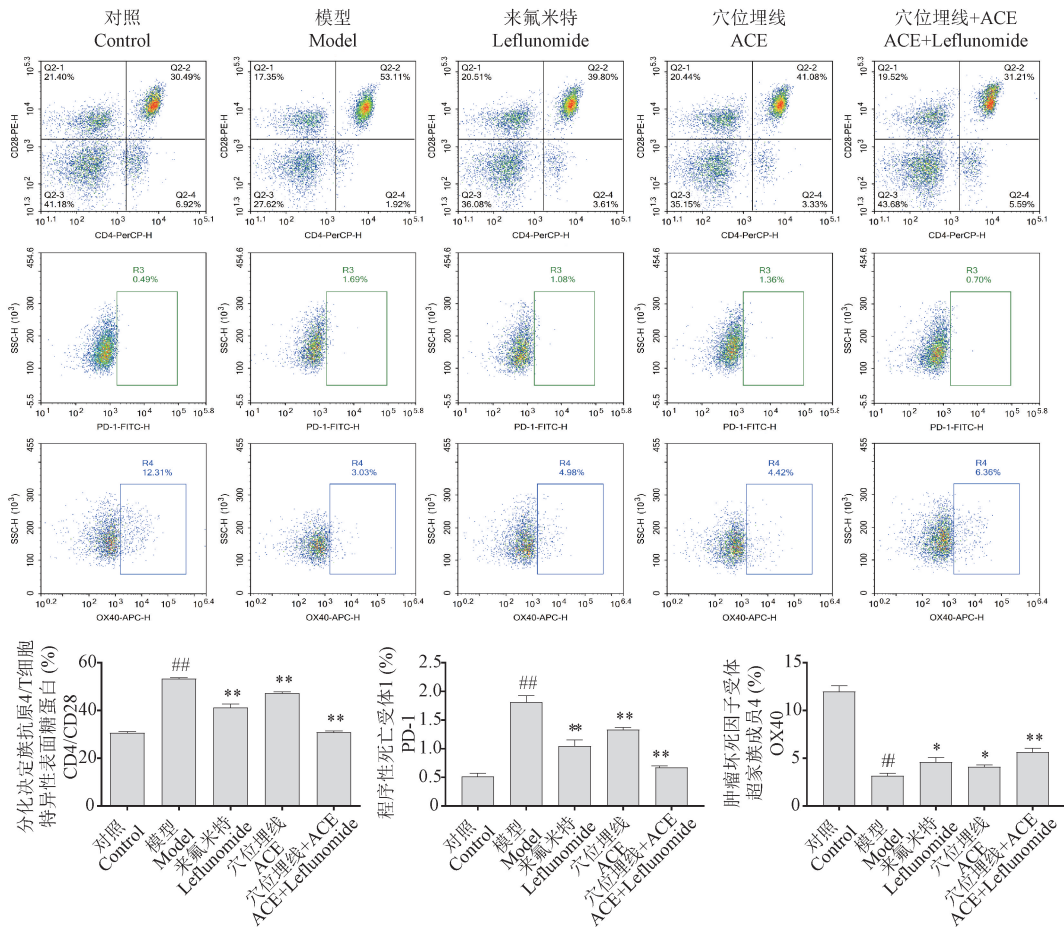


注:与对照组相比, ^{##} $P<0.01$;与模型组相比, ^{**} $P<0.01$ 。

图 4 大鼠滑膜组织 HE 染色

Note. Compared with control group, ^{##} $P<0.01$. Compared with model group, ^{**} $P<0.01$.

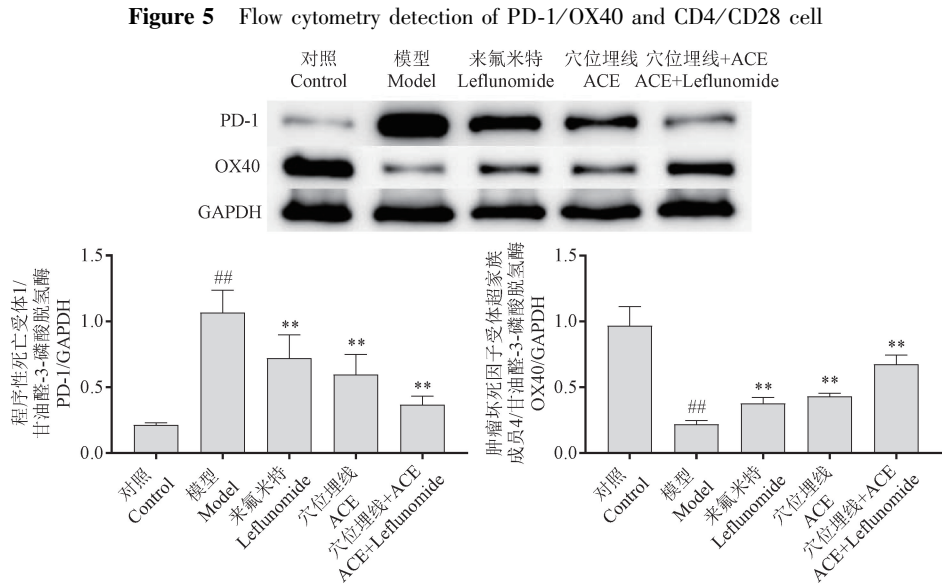
Figure 4 HE staining of rat synovium



注:与对照组相比, $^{##}P<0.01$;与模型组相比, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ 。

图 5 流式检测 PD-1/OX40 及 CD4/CD28 细胞含量

Note. Compared with control group, $^{##}P<0.01$. Compared with model group, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$.



注:与对照组相比, $^{##}P<0.01$;与模型组相比, $^{**}P<0.01$ 。

图 6 通过 Western blot 检测 PD-1 和 OX40 的蛋白表达

Note. Compared with control group, $^{##}P<0.01$. Compared with model group, $^{**}P<0.01$.

Figure 6 Detection of protein expression of PD-1 and OX40 by Western blot

检测相关通路的变化,与对照组比较,模型组 PD-1 的蛋白表达显著上调($P<0.01$),OX40 的蛋白表达显著下调($P<0.01$)。与模型组比较,来氟米特组、穴位埋线组和穴位埋线+来氟米特组 PD-1 的蛋白表达显著下调($P<0.01$),OX40 的蛋白表达显著上调($P<0.01$)。

3 讨论

RA 是一种慢性的炎症性关节疾病,可导致不可逆的关节损伤和严重残疾,在过去的几年里,在 RA 治疗方面已经取得了很大的进展,但其治疗机制尚不明确^[11]。而且,仍有一部分的患者对这些治疗并没有得到有效的反应。基于目前对穴位埋线的研究发现,穴位埋线不仅能够有效治疗多种疾病,而且还弥补了传统针灸治疗周期长和刺激时间短的缺点^[12-14]。李小兰等^[15]研究发现,通过穴位埋线联合西药治疗类风湿关节炎,结果实现其治疗效果显著改善。本研究中,通过对大鼠的关节炎评分发现,穴位埋线和来氟米特治疗后,大鼠的关节炎指数明显降低。在 RA 发病机制中,活化的 T 细胞产生炎性细胞因子刺激巨噬细胞和单核细胞。本研究中,在 RA 治疗中通过穴位埋线能够显著降低大鼠血清中 IL-6、IL-8 的含量,缓解了大鼠关节炎症,通过 HE 染色观察滑膜组织发现,在穴位埋线后大鼠滑膜关节的损伤明显的得到缓解。

程序性死亡受体 1(PD-1),是一种重要的免疫抑制分子,负责 T 细胞的激活增殖和细胞毒性的分泌^[16]。在慢性感染期间,PD-1 由于失去甲基化启动子而在耗尽的 CD8 细胞中表达^[17]。在一项研究中表明,与健康者比较,三名 HL 患者肿瘤浸润性 T 细胞中的 PD-1 水平显著升高^[18]。PD-1 能够向下调节免疫系统对人体细胞的反应,以及通过抑制 T 细胞炎症活动来调节免疫系统。OX40 是一种有效的共刺激受体,能够增强 T 淋巴细胞表面的 T 细胞受体信号,是能被特异性识别的信号^[19],其主要由 T 细胞表达,并在 CD4⁺T 细胞上的表达较高^[20],能够增强 T 细胞对效应分子和细胞因子的增殖和表达,对促炎细胞因子的产生有明显的抑制作用。

之前有研究证明,PD-1 的缺失或阻断可导致自身免疫性疾病^[21],而 OX40 信号对自身免疫性疾病具有治疗作用^[22]。Ma 等^[23]发现,具有高水平的 OX40 和低水平的 PD-1 会使晚期胰腺导管腺癌患者具有更长的生存时间。本研究中,在穴位埋线和

给予来氟米特后 OX40 的含量显著增加,CD4⁺CD28⁺和 PD-1 细胞含量显著下降;而 RA 模型组中 OX40⁺的含量最低,CD4⁺CD28⁺和 PD-1 细胞含量较高。我们推测这是在 RA 病理中可能存在 PD-1 和 OX40 共刺激信号的不平衡,使 CD4⁺T 细胞异常激活,从而导致自身免疫。共刺激分子 PD-1 和 OX40 分别属于免疫球蛋白家族和 TNF 家族,均在 CD4⁺T 细胞的激活直接具有重要的作用,其异常信号与多种自身免疫性疾病有关^[9]。

综上所述,本研究采用 CFA 诱导构建 RA 模型,通过实验进行穴位埋线和来氟米特治疗后,能够明显降低 RA 的炎症程度,其作用机制可能与调控 PD-1/OX40 信号通路有关。

参考文献:

- [1] 吴玉娥,曾业文,罗挺,等. 骨髓间充质干细胞对类风湿关节炎小鼠干预效果研究 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(1): 27-34.
- [2] Wasserman AM. Diagnosis and management of rheumatoid arthritis [J]. Am Fam Physician, 2011, 84(11): 1245-1252.
- [3] Landewé RB, van den Borne BE, Breedveld FC, et al. Methotrexate effects in patients with rheumatoid arthritis with cardiovascular comorbidity [J]. Lancet, 2000, 355(9215): 1616-1617.
- [4] Zhu SJ, Li X, Wei YW, et al. Acupoint catgut embedding improves learning and memory impairment in vascular dementia rats [J]. Ann Transl Med, 2023, 11(2): 108.
- [5] Song Y, Shi X, Gao Z, et al. Acupoint catgut embedding improves lipid metabolism in exercise-induced fatigue rats via the PPAR signaling pathway [J]. Animals (Basel), 2023, 13(4): 558.
- [6] Li D, Sun T, Chi L, et al. Acupoint catgut embedding improves the lipopolysaccharide-induced acute respiratory distress syndrome in rats [J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 2394734.
- [7] Lu J, Zhou J, Wang L, et al. Efficacy and safety evaluation of acupoint embedding for patients with ulcerative colitis: a protocol of systematic review and meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(34): e21812.
- [8] 蒋觉安. PD-1 负性和 OX40 阳性共刺激信号在类风湿性关节炎免疫病理中的作用机制及临床意义 [D]. 苏州: 苏州大学, 2013.
- [9] 陈丽川,段波,喻昭,等. 足三里和肾腧穴位埋线对大鼠类风湿关节炎 NF-κB 信号通路的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2022, 38(7): 1291-1296.
- [10] Wilkinson LS, Pitsillides AA, Edwards JC. Giant cells in arthritic synovium [J]. Ann Rheum Dis, 1993, 52(3): 182-184.