

苗田雨,帕丽达·买买提,努尔比亚·克其克,等. 中药松弛膏联合运动康复对关节挛缩大鼠关节纤维化 ROM 及炎症反应的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(12): 1-8.

Miao TY, Palida MMT, Nuerbiya KQK, et al. Study on songchi ointment combined with exercise rehabilitation on ROM expression and the inflammatory response in articular fibrosis of articular contracture rats [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(12): 1-8.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.12.001

中药松弛膏联合运动康复对关节挛缩大鼠关节纤维化 ROM 及炎症反应的研究

苗田雨¹, 帕丽达·买买提^{1*}, 努尔比亚·克其克², 王宁宁¹, 李晶晶¹, 史凌云²,
夏热帕·阿不都拉¹, 阿斯古丽·图尔荪¹,

(1.新疆医科大学护理学院, 乌鲁木齐 830000; 2.新疆医科大学第一附属医院护理部, 乌鲁木齐 830000)

【摘要】 目的 探讨中药松弛膏联合跑台运动康复干预方案对关节挛缩大鼠关节纤维化中 ROM、IL-6、IL-17 和 TGF- β 1 表达的影响。**方法** 44 只 Wistar 大鼠, 随机取 8 只大鼠为正常对照组 (NC 组), 其余 36 只大鼠建立关节挛缩模型。将 32 只造模成功的大鼠分为模型对照组 (MC 组)、中药松弛膏干预组 (SC 组)、跑台运动康复干预组 (RE 组)、中药松弛膏+跑台运动康复干预组 (SR 组), 每组 8 只。MC 组不进行任何干预; SC 组给予药物涂抹按摩; RE 组给予跑台训练; SR 组给予跑台训练后再进行药物涂抹按摩, 干预均为每天 1 次, 每周 6 d。于干预前、干预 42 d 后测量所有大鼠 ROM; 干预 42 d 后采用 ELISA 法检测大鼠 IL-6、IL-17 含量及 TGF- β 1 含量。**结果** 干预前模型组大鼠 ROM 与 NC 组相比显著降低 ($P<0.05$); 干预 42 d 后, 与 MC 组 ROM 相比, SR 组 ROM 和 SC 组 ROM 显著增加, 差异均具有统计学意义 ($P<0.05$)。干预后与 MC 组比, SC 组、RE 组及 SR 组 IL-6、IL-17 含量显著降低, 其中 SR 组显著低于 SC 组及 RE 组 ($P<0.05$); SR 组 TGF- β 1 含量均较 MC 组、SC 组及 RE 组显著降低 ($P<0.05$)。**结论** 中药松弛膏联合跑台运动康复干预能协同改善关节挛缩大鼠的关节活动度, 减轻炎症因子释放, 减少与纤维化有关的 TGF- β 1 的分泌, 从而改善关节挛缩大鼠关节纤维化的程度。

【关键词】 关节挛缩; 关节纤维化; 关节活动度; 白细胞介素-6; 白细胞介素-17; 转化生长因子- β 1

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 12-0001-08

Study on songchi ointment combined with exercise rehabilitation on ROM expression and the inflammatory response in articular fibrosis of articular contracture rats

MIAO Tianyu¹, PALIDA Maimaiti^{1*}, NUERBIYA Keqike², WANG Ningning¹, LI Jingjing¹, SHI Lingyun²,
XIAREPA Abudoula¹, ASIGULI Tuersun¹

(1. School of Nursing, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China.

2. Nursing Department, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of songchi ointment combined with running platform exercise rehabilitation on range of motion (ROM) and expression of interleukin (IL)-6, IL-17 and transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) in articular fibrosis of rats with articular contracture. **Methods** Among 44 Wistar rats, eight rats were

【基金项目】 国家自然科学基金项目 (82060417, 81660380)。

【作者简介】 苗田雨 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 关节挛缩的防治。E-mail: 278145683@qq.com

【通信作者】 帕丽达·买买提 (1976—), 女, 博士, 教授, 研究方向: 康复护理, 老年护理, 护理教育。E-mail: parida7301@126.com

randomly selected as the normal control group (NC group), and the other 36 rats were established joint contracture model. A total of 32 rats were divided into the model control group (MC group), songchi ointment intervention group (SC group), running platform exercise intervention group (RE group), and songchi ointment + running platform exercise intervention group (SR group) by the random number table method, with eight rats in each group. The MC group did not subjected to any intervention; the SC group was subjected to a drug smear massage, the RE group was subjected to running platform exercise; the SR group was subjected to running platform exercise, followed by drug smear massage, intervention was once a day, 6 days a week. Before intervention and after 42 days of intervention, ROM was measured in all rats. After 42 days of intervention, IL-6, IL-17 and TGF- β 1 contents of the rats were measured by ELISA. **Results** Before intervention, ROM of the model group was significantly lower than that of the NC group ($P < 0.05$). After 42 days of intervention, compared with the MC group, ROM of SR and SC groups was significantly increased, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). After intervention, compared with the MC group, IL-6 and IL-17 contents in SC, RE, and SR groups were significantly decreased, and those in the SR group was significantly lower than those in the SC and RE groups ($P < 0.05$). TGF- β 1 content in the SR group was significantly lower than that in the MC, SC, and RE groups ($P < 0.05$). **Conclusions** Songchi ointment combined with running platform exercise rehabilitation improves joint ROM, reduces the release of proinflammatory factors, and reduces the secretion of TGF- β 1 related to fibrosis in rats with joint contracture to improve the degree of joint fibrosis.

【Keywords】 joint contracture; arthrofibrosis; range of motion; IL-6; IL-17; TGF- β 1

关节挛缩 (joint contracture) 是临床上一种常见的慢性关节疾病,常伴随关节僵硬、畸形、功能受损等症状,是神经肌肉疾病与骨关节疾病的常见并发症^[1]。其症状为伴随关节主动或被动活动范围的丧失^[2],临床上表现为患者关节活动度 (range of motion, ROM) 下降,持续的主动及被动活动范围受限^[3]及步态异常等功能障碍^[4],严重影响患者日常生活自理能力 (activity of daily living, ADL)。关节挛缩可分为神经源性挛缩、关节源性挛缩与肌肉源性挛缩^[5],其中关节纤维化 (arthrofibrosis) 在关节挛缩形成中起到重要作用^[6]。在纤维化过程中,白细胞介素 (interleukin, IL) 6 (IL-6) 和 17 (IL-17) 及转化生长因子- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 引起的细胞因子失衡起关键作用^[7-9]。细胞外基质的大量沉积是纤维化的病理特点之一^[10],炎症细胞分泌细胞趋化因子,使细胞外基质过度沉积^[11],TGF- β 1 信号传导也参与细胞外基质的发育、迁移和沉积^[12],促使细胞外基质合成增加,最终关节囊内形成纤维化瘢痕组织以及纤维粘连。关节纤维化主要采用药物干预、物理干预以及外科干预等综合康复方法,致力于恢复关节的病理结构,改善关节活动度^[13]。然而,目前大多关节纤维化的治疗效果不佳。在本课题组的前期研究中发现,中药松弛膏外敷结合西医康复护理疗法能有效改善患者的下肢关节活动度^[14],减轻炎症反应^[15],但其改善病理变化的机制尚不清楚。本研究通过采用中药松弛膏联合跑台运动干预的综合康复干预方法,

探讨其对关节挛缩关节纤维化大鼠中 ROM、IL-6、IL-17 和 TGF- β 1 表达的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

44 只 6~8 周龄,SPF 级,体重为 180~220 g 的雄性 Wistar 大鼠,购自新疆医科大学实验动物中心 [SCXK (新)2018-0003],实验场所为新疆医科大学实验动物中心屏障环境动物实验室 [SYXK (新)2019-0004],饲养室照度 150~200 lx,室温控制在 18℃~22℃,相对湿度:50%±10%。动物房进行严格消毒,正常昼夜交替节律。本实验已通过新疆医科大学第一附属医院伦理委员会的审核 (20200326-03),并按实验动物使用的 3R 原则给予实验动物人道的关怀。

1.2 主要试剂与仪器

本课题组研制的中药松弛膏 (专利号 2018114781048),由多种具有消炎退肿、解痉祛风、止痛活血作用的动物油及中草药成分组成,该药物每 500 g 由原料亚麻籽 20 g、没药 20 g、葫芦巴 20 g、羊乳香 20 g、药蜀葵子 20 g、洋甘菊 20 g、秋水仙 20 g、马油 200 g 和牛骨髓 200 g 组成。其具有副作用小、对机体无创伤、使用便捷的特点,对消肿抗炎、软筋生肌、润肤防腐、化脓愈伤有积极作用。

义齿聚托聚合物自凝牙托粉 (上海贝琼齿材有限公司);义齿聚托聚合物自凝牙托水 (上海贝琼齿材有限公司);苏木素 (Sigma 公司,美国);伊红 (国

药集团化学试剂公司);IL-6 试剂盒(江莱生物);IL-17 试剂盒(江莱生物);TGF- β 1 试剂盒(江莱生物);戊巴比妥钠(默克公司,德国);0.9%生理盐水(利尔康医疗科技);碘伏(利尔康医疗科技)。

FT-200 型动物跑步机(成都泰盟软件有限公司);0.8 mm 带螺纹定制骨牵引针(天津希翼器械公司);骨科电钻(盐城奥瑞公司);冰冻切片机(LEICA 公司,德国);液氮罐(乌鲁木齐制氧厂);手持式组织匀浆机(PRO Scientific 公司,法国);超声波破碎仪(宁波新芝);普通光学显微镜(尼康公司,美国);电子天平(PL403)(Mettler Toledo 公司,美国);精密电子天平(Sartorius 公司,德国);超低温冰箱(994)(Thermo Scientific 公司,美国);台式低温冷冻高速离心机(Thermo Scientific 公司,美国)。

1.3 实验方法

1.3.1 模型制备方法

按照 Nagai 等^[16]法,复制本次课题所需的关节挛缩模型,具体步骤如下:采用随机数字表法将 44 只大鼠分为正常对照组(normal control group, NC 组)8 只和模型组 36 只。取模型组 36 只大鼠,腹腔注射 3%戊巴比妥钠(3 mg/kg)深度麻醉后将左后肢脱毛并消毒;分别在股骨和胫骨 1/2 和 1/3 处进针,将 0.8 mm 带螺纹的克氏针垂直穿过但未穿破内侧皮肤,再将外露的克氏针剪至超出皮肤约 1.8 cm;用量角器使股骨和胫骨夹角固定于 45°,用无菌软铁丝连接股骨和胫骨外露的克氏针;将自凝牙托粉和自凝牙托水按比例混合,包裹软铁丝和外露的克氏针。固定结束后对所有大鼠进行 X 线拍摄(如图 1),36 只大鼠固定成功。复制关节挛缩模型 3 周后,随机抽取 2 只大鼠,处死大鼠后剥离关节囊滑膜,进行苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色,判断已发生挛缩,拆除固定装置,发现 2 只大鼠骨折,最终 32 只大鼠制模成功。

1.3.2 HE 染色验证模型制备是否成功

常规包埋切片,脱蜡、脱二甲苯、返蓝、染色、封片,在光学显微镜下观察切片形态并记录。

1.3.3 干预方法

采用随机数字表法将 32 只大鼠分为模型对照组(model control group, MC 组)、中药松弛膏干预组(songchi ointment intervention group, SC 组)、跑台运动干预组(running platform exercise intervention group, RE 组)、中药松弛膏+跑台运动干预组

(songchi ointment + running platform exercise intervention group, SR 组)。

(1)MC 组:去除固定装置后,不给予特殊干预;(2)SC 组:去除固定装置后,在造模侧膝关节周围涂抹中药松弛膏约 18 g 并采用指揉法按摩 3 min,每日 1 次,1 周 6 次,共 6 周;(3)RE 组:将大鼠置于跑步机上,结合已有文献报道^[15],将速度设定在 1 km/h,每次 20 min,每日 1 次,1 周 6 次,共 6 周;(4)SR 组:先按照运动康复干预组的方法进行跑台训练,训练结束后按照中药松弛膏干预组的方法进行药物涂抹与按摩,每日 1 次,1 周 6 次,共 6 周。

1.3.4 ROM 的测量

分别于取出固定装置后、干预 42 d 后对所有大鼠进行 X 片拍摄,给每只大鼠腹腔注射 3%的戊巴比妥钠(3 mg/kg)进行深度麻醉,右侧卧位于 X 片机台上并左后肢踝关节悬挂 0.5 N 砝码固定以保证每一只大鼠受力均匀,砝码必须与大鼠正中线平行悬挂,避免接触任何物品,以保证每一只大鼠均使用同等大小的拉力,X 光下拍摄股骨与胫骨夹角,并用 Image J 软件测量大鼠左膝关节 ROM。

1.3.5 ELISA 检测 IL-6、IL-17、TGF- β 1 含量

干预 42 d 后进行取材,取材前 24 h 禁食不禁水,腹腔注射 3%的戊巴比妥钠麻醉后,采大鼠腹主动脉血室温静置 2 h 后以 3000 r/min 离心 10 min 并抽取上清液置于-80℃冰箱内;取各组大鼠血清样本,根据试剂盒说明书要求处理样本后,采用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测各组大鼠血清中 IL-6 及 IL-17 含量;取大鼠滑膜组织液,由于大鼠滑膜组织液量极少,不足以达到检测的最低样本量,因此添加灭菌用水稀



图 1 复制关节挛缩模型后大鼠 X 线拍摄

Figure 1 After the joint contracture model was reproduced, the rats were photography by X-ray

释至 10%, 采用 ELISA 检测试剂盒检测 TGF- β 1 含量。

ELISA 检测方法:按照 ELISA 试剂盒说明书检测,从室温平衡 60 min 后的铝箔袋中取出所需板条;配置标准液;标准品孔、样品孔内分别加入标准品、待测样本 50 μ L,空白孔不加;每孔加入 50 μ L 的抗体工作液后孵育;洗涤后每孔加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的检测抗体 100 μ L;加酶后孵育加终止液,读取吸光度,制作标准曲线。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 26.0 软件(美国 IBM 公司)进行统计分析。经正态性检验和方差齐性检验后,服从正态分布的计量资料用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,两组间比较采用组间 t 检验,检验水准取 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为有统计学意义。实验分析图使用 Graphpad prism 9.02 绘制。

2 结果

2.1 干预前、模型制备后 HE 染色验证结果

模型制备 3 周后,通过 HE 染色观察大鼠关节囊滑膜发现,大量炎性细胞浸润,纤维组织排列紊乱,滑膜内壁可见增厚萎缩等改变,复制大鼠关节挛缩模型成功(如图 2)。

2.2 各组大鼠左膝关节 ROM 比较

取出固定装置后、实验干预前 NC 组和模型组大鼠 ROM 比较(见表 1):与 NC 组大鼠 ROM (113.35 ± 6.56) $^{\circ}$ 相比,模型组大鼠 ROM (97.59 ± 7.99) $^{\circ}$ 明显下降,差异具有统计学意义($t=4.861$, $P<0.05$),故复制大鼠关节挛缩模型成功。

2.3 干预前、干预 42 d 后各组大鼠 ROM 比较

干预 42 d 后 RE 组与 SR 组比较, $t=-2.307$, $P<0.05$,与 MC 组比较, $t=2.788$, $P<0.05$;MC 组与 SR 组比较, $t=-5.817$, $P<0.05$,与 SC 组比较, $t=-3.222$, $P<0.05$,差异均具有统计学意义;RE 组与 SC 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。与干预前相比(见表 2),干预 42 d 后 SC 组、RE 组、SR 组 ROM 均较干预前显著提高,差异具有统计学意义(如图 3)。

2.4 各组大鼠 IL-6、IL-17 水平

通过两两组间比较发现(如图 4),MC 组 IL-6 (1.184 ± 0.056) pg/mL、IL-17 (0.703 ± 0.019) pg/mL 含量均较 NC 组显著升高($P<0.01$);RE 组 IL-6

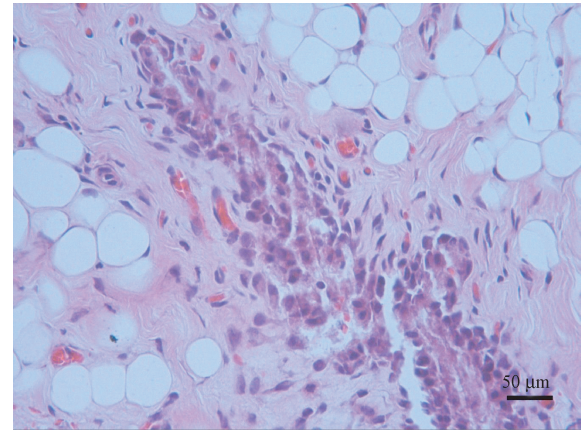


图 2 模型制备后大鼠关节囊滑膜组织 HE 染色观察(滑膜)

Figure 2 Observation of synovial tissue of rat joint capsule after model preparation(Synovial membrane)

表 1 正常对照组与模型组在取出固定装置后、实验干预前 ROM 比较($^{\circ}$, $\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of ROM between normal control group and model group after removal of fixed device and before experimental intervention

分组 Groups	取出固定装置后、干预前 After removal of fixed device and before experimental intervention
NC 组($n=7$) NC group	113.35 ± 6.56
模型组($n=32$) Model group	97.59 ± 7.99
t 值 t value	$t=4.861$
P 值 P value	$P<0.05$

注:正常对照组一只大鼠依从性较差,数据淘汰;经 2~3 次麻醉药追加达不到麻醉效果,导致达不到实验要求,因此淘汰。

Note: Compliance of a rat in the normal control group was poor, and the data were eliminated; the anesthesia effect could not be achieved after 2~3 times of anesthesia addition, which led to the failure to meet the requirements of the experiment, so it was eliminated.

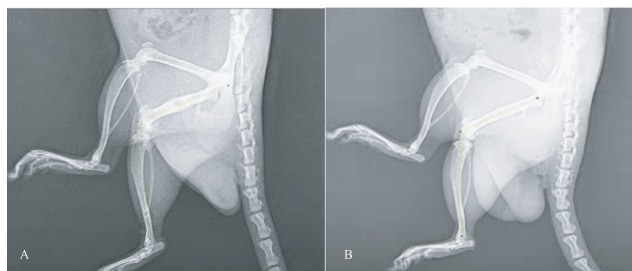
表 2 各组大鼠在干预前、干预 42 d 后 ROM 比较($^{\circ}$, $\bar{x}\pm s$)

Table 2 ROM comparison of rats in each group before and 42 days after intervention

分组 Groups	干预前 Before experimental intervention	干预 42 d 后 After 42 days of intervention
NC 组 NC group	113.35 ± 6.56 ($n=7$)	122.42 ± 3.39 ($n=6$)
MC 组 MC group	93.60 ± 7.14 ($n=8$)	104.51 ± 4.48 ($n=7$)
SC 组 SC group	102.41 ± 9.92 ($n=8$)	112.16 ± 4.68 ($n=8$)
RE 组 RE group	97.03 ± 5.89 ($n=8$)	111.47 ± 4.85 ($n=7$)
SR 组 SR group	97.33 ± 7.29 ($n=8$)	116.43 ± 3.45 ($n=8$)

注:NC 组一只大鼠依从性较差,数据淘汰;NC 组、MC 组、RE 组各一只大鼠麻醉死亡。

Note: Compliance of one rat in NC group was poor and the data were eliminated. One rat in NC group, MC group and RE group died of anesthesia.

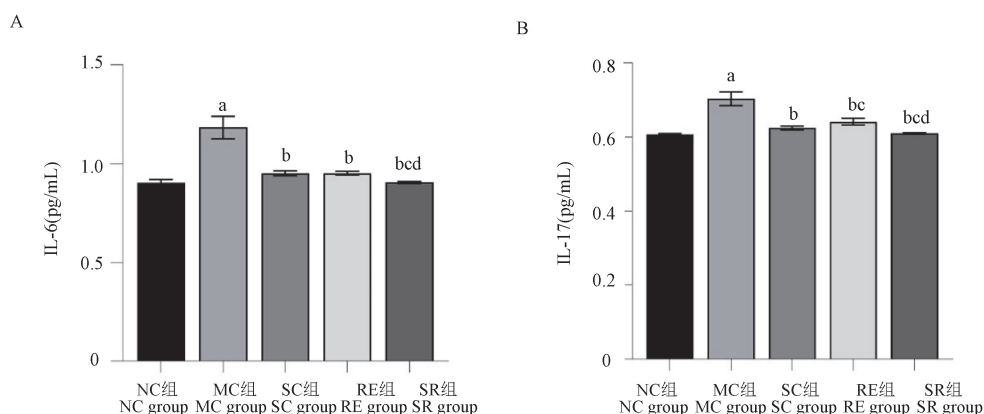


注:A;SR 组取出固定装置后左下肢 ROM(105.68°);B;SR 组干预 42 d 后左下肢 ROM(115.53°)。标注黄线;测量角度。

图 3 取出固定装置后、干预 42 d 后大鼠 X 线拍摄

Note. A, Left lower limb ROM (105.68°) in the SR group after removal of the fixation device. B, Left lower limb ROM (115.53°) in the SR group after 42 days of intervention. Yellow line, Measurement angle.

Figure 3 After removing the fixation device and 42 days after intervention, the rats were photographed by X-ray



注:A;IL-6 含量;B;IL-17 含量。与 NC 组比较,^a $P<0.05$;与 MC 组比较,^b $P<0.05$;与 SC 组比较,^c $P<0.05$;与 RE 组比较,^d $P<0.05$ 。

图 4 各组大鼠血清样本 IL-6 及 IL-17 含量比较

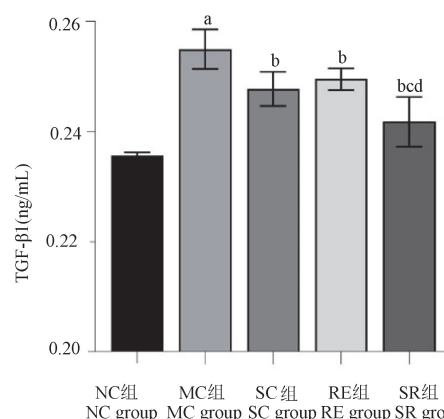
Note. A, IL-6 content. B, IL-17 content. Compared with NC group, ^a $P<0.05$. Compared with MC group, ^b $P<0.05$. Compared with SC group, ^c $P<0.05$. Compared with RE group, ^d $P<0.05$.

Figure 4 Comparison of IL-6 and IL-17 contents in serum samples of rats in each group

(0.952±0.010) pg/mL, IL-17 (0.642±0.009) pg/mL 含量, SC 组 IL-6 (0.952±0.012) pg/mL、IL-17 (0.625±0.005) pg/mL 含量, SR 组 IL-6 (0.905±0.005) pg/mL、IL-17 (0.610±0.002) pg/mL 含量均较 MC 组明显降低,组间差异均具有统计学意义($P<0.01$);SR 组 IL-6 及 IL-17 含量均数显著低于 SC 组、RE 组,组间差异均具有统计学意义($P<0.05$)。

2.5 各组大鼠滑膜液中 TGF-β1 的含量

通过两两组间比较发现(如图 5),MC 组 TGF-β1 含量 (0.255±0.004) ng/mL,较 NC 组 (0.236±0.001) ng/mL 显著升高,差异具有统计学意义($P<0.01$);SC 组 (0.248±0.003) ng/mL、RE 组 (0.250±0.002) ng/mL 及 SR 组 (0.242±0.005) ng/mL TGF-β1 含量均较模型对照组显著降低,组间差异均具有统计学意义($P<0.01$);SR 组 TGF-β1 含量均数显著低于 SC 组、RE 组,组间差异均具有统计学意义($P<0.05$)。



注:与 NC 组比较,^a $P<0.05$;与 MC 组比较,^b $P<0.05$;与 SC 组比较,^c $P<0.05$;与 RE 组比较,^d $P<0.05$ 。

图 5 各组大鼠滑膜液 TGF-β1 含量比较

Note. Compared with NC group, ^a $P<0.05$. Compared with MC group, ^b $P<0.05$. Compared with SC group, ^c $P<0.05$. Compared with RE group, ^d $P<0.05$.

Figure 5 Comparison of TGF-β1 content in synovial fluid of rats in each group

3 讨论

随着人类社会的不断发展,交通事故频繁发生、户外运动持续增多、生活方式改变使慢性病的患病率逐年升高,骨关节疾病发生率也呈逐年上升趋势,尤其是关节挛缩患者大幅增加。关节固定是临床上引起关节挛缩最常见的原因^[17]。当骨折、关节脱位、韧带损伤发生后,常采用关节固定^[17]。然而,不正确的固定或过长的固定时间使关节缺乏活动,引起组织的退变或萎缩性改变,如关节周围软组织纤维化^[18],导致关节挛缩^[19]、关节活动受限等,其极大降低患者生活质量,给患者重回社会带来严峻挑战。目前临床上治疗关节纤维化的方法很多,但其治疗效果均不理想,手术治疗获益与风险并存,药物治疗的病理机制尚需进一步深入研究^[13]。自各国相继发现新型冠状病毒肺炎(coronavirus disease 2019, COVID-19)以来,慢性非传染性疾病患者的用药、诊疗及康复需求得不到满足^[20]。在这种形势下,无需设备及专业人员便可执行的康复方案的独特优势尤为凸显。近年来,中药疗法的使用越来越广泛,中药外敷以省时省力、贴敷方便、副作用小、可与其他康复方案联合应用的独特优势备受青睐^[21-22]。因此本研究采用课题组成熟的关节挛缩动物模型,将大鼠制动 3 周后拆除外固定,通过中药松弛膏联合跑台运动康复的干预方法,探究其对关节挛缩大鼠关节纤维化的影响。

本研究在模型制备成功后、干预前测量大鼠膝关节 ROM,结果显示,与 NC 组相比,模型组大鼠关节活动度显著减小,进一步说明关节固定是关节挛缩发生的首要原因。干预 42 d 后,测量大鼠膝关节 ROM,结果显示,SC 组、RE 组、SR 组 ROM 均较模型对照组显著提高,提示适宜的运动有利于关节功能的恢复,维持正常的关节活动,对改善关节功能减退、关节畸形具有重要意义。中药松弛膏中主要成分秋水仙碱可抑制炎症因子释放,阻断中性粒细胞释放至关节腔内,消除关节肿胀^[23-24]、没药与乳香具有消肿生肌、活血止痛的功效^[25-27]、亚麻籽中富含的 omega-3 可减轻炎症、激活肌纤维细胞加速肌肉再生^[28],对改善大鼠 ROM 起到一定疗效。本研究结果显示,中药松弛膏联合跑台运动康复干预组 ROM 显著高于单纯跑台运动康复干预组与中药松弛膏干预组,提示中药松弛膏与运动疗法具有协同作用,可进一步改善关节挛缩关节纤维化大鼠的 ROM。

关节挛缩和纤维化是复杂的病理生理过程,与

多种细胞因子驱动的炎症反应有关,研究发现^[29-30],IL-6、IL-17 在各种疾病和组织中显示出纤维化活性。IL-6 由巨噬细胞及 T 细胞产生,可促进中性粒细胞聚集于炎症反应部位,释放蛋白酶及氧自由基^[31],介导免疫病理损伤参与纤维化发展,反应纤维化程度^[32]。IL-17 主要作用于间充质来源的细胞^[33],分泌各种前炎症细胞因子及抗菌肽,诱导内质网应激,促进上皮细胞损伤,引起纤维化。TGF- β 1 是纤维化的主要参与物,其由巨噬细胞、内皮细胞产生,通过自分泌、旁分泌调控细胞生长,是最主要的致纤维化因子之一^[34]。在早期阶段,组织通过大量释放 TGF- β 1^[35],与多种细胞相互作用^[36],形成复杂的纤维化网络。在本研究中,MC 组 TGF- β 1 含量较正常对照组显著升高,表明在关节纤维化的形成中,TGF- β 1 发挥着重要作用。在复杂的纤维化网络中,TGF- β 1 通路被广泛认为可诱导组织的纤维化^[37]。

本研究中,模型制备当日大鼠关节囊滑膜 HE 染色显示,纤维组织排列紊乱,滑膜内壁可见增厚萎缩等改变,大量炎症细胞浸润,提示模型制备成功。干预 42 d 后模型对照组炎症因子水平显著高于其余四组,提示单核吞噬细胞、中性粒细胞聚集,引起并加重炎症与纤维化活性。运动疗法是防治关节纤维化的有效手段,研究表明,作为重要的有氧运动方式之一,跑台运动对炎症因子水平、制动引起的关节挛缩关节纤维化有明显的改善作用^[38-40],故本研究采用跑台训练,结果显示 RE 组 IL-6、IL-17 以及 TGF- β 1 含量较 MC 组显著降低,运动疗法可显著改善炎症反应及纤维化。在中药松弛膏干预时采用按摩手法,促进关节周围组织血液循环,松解组织粘连,放松肌肉^[41],有利于药物吸收,充分发挥药物成分抗炎消肿,活血止痛的效用。在干预 42 d 后,SR 组的炎症因子含量、TGF- β 1 含量显著低于 MC 组、SC 组及 RE 组,提示中药松弛膏联合运动疗法能通过抑制炎症因子分泌,降低大鼠关节纤维化水平。

本研究为中医药联合运动的干预方案对关节挛缩关节纤维化的防治提供新思路,后续研究中,TGF- β /Smad 信号传导调控中药松弛膏联合跑台运动康复的干预方案对关节挛缩大鼠的关节纤维化的机制值得进一步研究。综上所述,中药松弛膏联合跑台运动康复的干预方案可通过改善关节活动度,减轻炎症因子释放,减少 TGF- β 1 的分泌来改善关节挛缩大鼠的关节纤维化。因此,通过中药松弛膏联合跑台运动康复干预对关节挛缩大鼠关节纤

维化中 IL-6、IL-17 和 TGF- β 1 表达的影响研究,正确认识该疾病的康复模式,制定合理的康复方案,并采取有针对性的干预措施,对于提高这类患者生活质量及生存率至关重要。

参考文献:

- [1] 王璐,贾子善,张立宁. 关节挛缩的发病机制及治疗进展[J]. 中国骨伤, 2020, 33(8): 788-792.
- [2] Offenbächer M, Sauer S, Rieß J, et al. Contractures with special reference in elderly: definition and risk factors-a systematic review with practical implications [J]. Disabil Rehabil, 2014, 36(7): 529-538.
- [3] Mack M, Yanagita M. Origin of myofibroblasts and cellular events triggering fibrosis [J]. Kidney Int, 2015, 87(2): 297-307.
- [4] 张全兵,周云,钟华璋,等. 关节挛缩的发病机制和治疗进展[J]. 中华创伤骨科杂志, 2017, 19(6): 548-552.
- [5] Tokuda K, Yamanaka Y, Kosugi K, et al. Development of a novel knee contracture mouse model by immobilization using external fixation [J]. Connect Tissue Res, 2022, 63(2): 169-182.
- [6] 卢国强. 创伤后的关节挛缩[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(39): 7345-7349.
- [7] Vaamonde-Garcia C, Malaise O, Charlier E, et al. 15-Deoxy- Δ -12, 14-prostaglandin J2 acts cooperatively with prednisolone to reduce TGF- β -induced pro-fibrotic pathways in human osteoarthritis fibroblasts [J]. Biochem Pharmacol, 2019, 165: 66-78.
- [8] Meng XM, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY. TGF- β : the master regulator of fibrosis [J]. Nat Rev Nephrol, 2016, 12(6): 325-338.
- [9] 陆丹丹,韩晓燕,张晗,等. 类风湿性关节炎药理实验模型的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(5): 107-114.
- [10] Li J, Yao W, Zhang L, et al. Genome-wide DNA methylation analysis in lung fibroblasts co-cultured with silica-exposed alveolar macrophages [J]. Respir Res, 2017, 18(1): 91.
- [11] Serrano AL, Mann CJ, Vidal B, et al. Cellular and molecular mechanisms regulating fibrosis in skeletal muscle repair and disease [J]. Curr Top Dev Biol, 2011, 96: 167-201.
- [12] Ozawa J, Kaneguchi A, Tanaka R, et al. Cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib attenuates joint contracture following immobilization in rat knees [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2016, 17(1): 446.
- [13] 代显葵,尹文哲,胡道然,等. 膝关节纤维化治疗方法的研究进展[J]. 医学综述, 2021, 27(12): 2413-2417, 2423.
- [14] 帕丽达·买买提,武云云,茹克亚古丽·买买提,等. 综合康复护理干预对废用综合征患者的效果评价[J]. 中国康复医学杂志, 2018, 33(3): 340-342.
- [15] 古哈尔·艾思拉洪,帕丽达·买买提,武云云,等. 康复护理干预对关节挛缩大鼠模型的作用探讨[J]. 中国实用护理杂志, 2020, 36(18): 1415-1420.
- [16] Nagai M, Aoyama T, Ito A, et al. Contributions of biarticular myogenic components to the limitation of the range of motion after immobilization of rat knee joint [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2014, 15: 224.
- [17] Kaneguchi A, Ozawa J. Inflammation and fibrosis induced by joint remobilization, and relevance to progression of arthrogenic joint contracture: a narrative review [J]. Physiol Res, 2022, 71(4): 447-488.
- [18] Zhang QB, Zhou Y, Zhong HZ, et al. Effect of stretching combined with ultrashort wave diathermy on joint function and its possible mechanism in a rabbit knee contracture model [J]. Am J Phys Med Rehabil, 2018, 97(5): 357-363.
- [19] Born CT, Gil JA, Goodman AD. Joint contractures resulting from prolonged immobilization: etiology, prevention, and management [J]. J Am Acad Orthop Surg, 2017, 25(2): 110-116.
- [20] Basu S. Non-communicable disease management in vulnerable patients during Covid-19 [J]. Indian J Med Ethics, 2020, 2: 103-105.
- [21] Wang S, Xiong Z, Liu Y, et al. Efficacy and safety of acupuncture and moxibustion combined with the external application of traditional Chinese medicine in the treatment of primary liver cancer: a protocol for systematic review and meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2021, 100(43): e27659.
- [22] 胡雷,钟飞,张彩霞,等. 现代化中药安全性评价和关键技术研究体系的建立与应用[J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(5): 12-15.
- [23] 韦业娟,吕白,雷雅然,等. 秋水仙碱缓释微丸对痛风性关节炎急性发作的预防作用研究[J]. 广西医科大学学报, 2022, 39(1): 21-27.
- [24] Wang W, Pang J, Ha EH, et al. Development of novel NLRP3-XOD dual inhibitors for the treatment of gout [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2020, 30(4): 126944.
- [25] 杨宝,陈志超,陈芳有,等. 没药化学成分及生物活性研究进展[J]. 中药材, 2021, 44(10): 2476-2484.
- [26] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社; 2020.
- [27] 宿树兰,缪晓冬,李佳响,等. 乳香与没药相须配伍特征分析及其现代研究进展与展望[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(21): 5789-5796.
- [28] Isesele PO, Mazurak VC. Regulation of skeletal muscle satellite cell differentiation by *Omega*-3 polyunsaturated fatty acids: a critical review [J]. Front Physiol, 2021, 12: 682091.
- [29] Blease K, Jakubzick C, Westwick J, et al. Therapeutic effect of

- IL-13 immunoneutralization during chronic experimental fungal asthma [J]. *J Immunol*, 2001, 166(8): 5219–5224.
- [30] Aliprantis AO, Wang J, Fathman JW, et al. Transcription factor T-bet regulates skin sclerosis through its function in innate immunity and via IL-13 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(8): 2827–2830.
- [31] Wang J, Li X, Zhong M, et al. MiR-301a suppression within fibroblasts limits the progression of fibrosis through the TSC1/mTOR pathway [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 21: 217–228.
- [32] Moitra S, Puri R, Paul D, et al. Global perspectives of emerging occupational and environmental lung diseases [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2015, 21(2): 114–120.
- [33] 杨元, 袁正洲, 吕志宇, 等. 血管活性肠肽(VIP)对实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)大鼠脑组织 IL-17A 含量的影响 [J]. *中国比较医学杂志*, 2016, 26(10): 32–35, 68.
- [34] Li N, Wu K, Feng F, et al. Astragaloside IV alleviates silica-induced pulmonary fibrosis via inactivation of the TGF- β 1/Smad2/3 signaling pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(3): 16.
- [35] 李睿, 江扬帆, 童琳, 等. 龙血竭总黄酮对免疫性肝纤维化大鼠肝脏中 TGF- β ₁ 表达的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(4): 549–553.
- [36] 王飞, 刘克敏, 刘四海, 等. 康复治疗对创伤后膝关节僵直活动度及肌肉组织的影响 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2017, 25(6): 534–538.
- [37] 刘阿英, 张全兵, 周云, 等. 电刺激对兔膝关节挛缩的治疗作用及其抗纤维化机制研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2021, 56(10): 1570–1575.
- [38] Sakai H, Kimura M, Isa Y, et al. Effect of acute treadmill exercise on cisplatin-induced muscle atrophy in the mouse [J]. *Pflugers Arch*, 2017, 469(11): 1495–1505.
- [39] Urquhart DS, Saynor ZL. Exercise testing in cystic fibrosis: who and why? [J]. *Paediatr Respir Rev*, 2018, 27: 28–32.
- [40] Liu M, Lin X, Wang X. Decrease in serum chemerin through aerobic exercise plus dieting and its association with mitigation of cardio-metabolic risk in obese female adolescents [J]. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 2018, 31(2): 127–135.
- [41] Bervoets DC, Luijsterburg PA, Alessie JJ, et al. Massage therapy has short-term benefits for people with common musculoskeletal disorders compared to no treatment: a systematic review [J]. *J Physiother*, 2015, 61(3): 106–116.

[收稿日期]2022-07-08