

艾灸不同腧穴对KOA大鼠不同组织TNF- α 、MMP-13表达的影响*

李明静, 张健强, 郭靖, 王成, 袁君, 周海燕**, 余曙光

(成都中医药大学针灸推拿学院 成都 610075)

摘要:目的 观察艾灸不同腧穴对膝骨性关节炎(KOA)大鼠血清及关节软骨与滑膜TNF- α 、MMP-13表达的影响,探讨艾灸不同腧穴对KOA大鼠的特异性调节作用。方法 将大鼠随机分为空白组(Con)、模型组(KOA)、模型+足三里艾灸组(ST36)、模型+阳陵泉艾灸组(GB34)、模型+犊鼻艾灸组(ST35),每组8只。选择关节腔注射MIA溶液的方法制备KOA模型。ST36、GB34、ST35组每日艾灸30 min,7天为1个疗程,共3个疗程。分析各组大鼠的机械刺激痛阈值(MWT),番红固绿染色及OARSI评分,血清、关节软骨与滑膜的TNF- α 、MMP-13的表达情况。结果 与Con组比,KOA组足底机械痛阈值下降,OARSI评分、血清与关节软骨和滑膜TNF- α 以及血清、关节滑膜MMP-13的表达均明显升高($P<0.001$, $P<0.05$)。与KOA组比,3个治疗组足底机械痛阈值上升,OARSI评分、血清TNF- α 和MMP-13、软骨TNF- α 均降低($P<0.001$, $P<0.05$),软骨MMP-13无明显变化($P>0.05$);ST36组滑膜TNF- α 和MMP-13低表达($P<0.05$);ST35组滑膜MMP-13表达降低($P<0.05$);GB34组滑膜TNF- α 降低($P<0.01$)。与GB34组比,ST36组OARSI评分更低($P<0.05$),ST35组血清MMP-13下降显著($P<0.01$)。与ST36组比,ST35组的血清TNF- α 下降更明显($P<0.01$)。结论 艾灸不同腧穴治疗KOA表现出腧穴的特异性功效。足三里的作用范围最大,可以从整体和局部都发挥抗炎以及缓解关节损伤的作用;犊鼻侧重从整体抗炎;阳陵泉侧重从局部滑膜抗炎。

关键词:膝骨性关节炎 艾灸 足三里 阳陵泉 犊鼻 特异性作用

doi: 10.11842/wst.20220315005 中图分类号: R245.3 文献标识码: A

针灸学是祖国医学的瑰宝,它作为一种体表干预疗法在医学的发展过程中始终独具特色,越来越多的高质量研究已经提供了关于针灸作用的生物学证据,证明了针灸对中风后失语、颈肩痛、血管性痴呆、妇女产后泌乳、过敏性鼻炎等疾病的治疗效应^[1]。经络腧穴理论是针灸学的基础及核心,近年来,腧穴成为了继经络研究之后针灸发展中备受关注的焦点,其中腧穴功效作为实现针灸临床疗效的基础,由于在目前的研究中没有得到全面、透彻且深入的理解^[2],受到了部分学者的质疑。

膝骨性关节炎(Knee osteoarthritis, KOA)^[3]是一种人体膝骨关节慢性退行性疾病,主要表现为膝关节疼痛、僵硬、活动受限,甚至畸形^[4]。该病临床发病率高,且伴随着人口老龄化进程的加快已成为危害人民健康的重大问题。在我国,60岁以上人群中已有近一半的人患有此病,75岁以上人群患病率不低于80%^[5]。在世界范围内,估计有2.5亿人患有此病^[6]。如此之高的发病率与致残率不仅降低了家庭生活水平,还带来了沉重的物质负担,同时处于长久病痛的状态下也严重影响心理健康状况。

收稿日期:2022-03-15

修回日期:2022-05-17

* 国家科学技术部国家重点研发计划(2019YFC1709001):腧穴“特效”、“共效”的功能特点研究,负责人:余曙光;国家自然科学基金委员会面上项目(81973959):艾灸“扶正祛邪”治疗类风湿关节炎“正邪相争”的巨噬细胞M1/M2极化免疫机制研究,负责人:周海燕。

** 通讯作者:周海燕,硕士研究生导师,主要研究方向:针灸调理神经-内分泌-免疫机制研究。

传统中医疗法治疗膝骨性关节炎效果优良,其中,艾灸作为非药物疗法之一,不仅能够起到通经活络、行气活血、温经散寒的作用,还可以改善组织器官微循环、调节免疫力、激活炎症反应并诱导血管变化;同时兼有操作简单、疗效好、成本低、绿色健康的优点,已在160多个国家的临床实践中得到应用,并已成为世界各地补充和替代医学的主流^[7]。鹿秀云等^[8]经Meta分析发现,艾灸比其他疗法更显著地减轻KOA患者疼痛、改善功能障碍、缓解僵硬程度、改善Lysholm膝关节功能评分、总有效率更高。国内外大量文献均证实艾灸治疗膝骨性关节炎疗效显著,关节炎也是世界卫生组织推荐针灸治疗的疾病之一,属于针灸疗法的优势病种,因而是研究腧穴功效的良好载体。

故本研究选择KOA模型大鼠为研究对象,主要通过比较艾灸足三里、阳陵泉、犊鼻对血清及关节软骨与滑膜TNF- α 、MMP-13表达的影响,发现这3个腧穴的特异性调节作用,以期科学认识腧穴功效奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

选用健康成年清洁级SD大鼠40只,雄性,体质量 200 ± 20 g。动物由成都达硕实验动物有限公司提供,生产许可证号:SCXK(川)2020-030,购回饲养于成都中医药大学针灸推拿学院实验室。实验室室温 $20\sim 24^{\circ}\text{C}$,相对湿度40%-55%,光暗周期:12 h/12 h,自由饮食饮水,适应性饲养1周。按照随机数字表法分为空白组(Con)、模型组(KOA)、模型+足三里艾灸组(ST36)、模型+阳陵泉艾灸组(GB34)、模型+犊鼻艾灸组(ST35),每组8只。本次动物实验遵循成都中医药大学实验动物伦理委员对实验动物的伦理学要求(2019-04)。

1.2 主要试剂与仪器

单碘乙酸钠(Monoiodoacetic acid, MIA, 美国Sigma),大鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α) ELISA试剂盒(JM-01587R1, 江苏晶美),大鼠基质金属蛋白酶13(MMP-13) ELISA试剂盒(JM-01517R1, 江苏晶美),4%多聚甲醛(30525-89-4, 成都市科隆化学品有限公司),EDTA脱钙液(B0317-11, 四川扬克斯特科技有限公司),骨组织固绿染色(G1053-2, 中国Servicebio),骨组织番红染色(G1053-2, 中国Servicebio),戊巴比妥钠(上

海上药新亚药业有限公司),TNF- α 一抗(AF7014, 中国Affinity),MMP-13(AF5355, 中国Affinity),组化二抗试剂盒(SP9001, 北京中杉金桥生物技术有限公司)。

Electric Von Frey痛觉测量仪(38450, 意大利Ugo-Basile),酶标仪(Multiskan FC, 美国THERMO FISHER),石蜡切片机(RM2235, 德国Leica),光学显微镜(CX22, 日本OLMPUS),徕卡显微成像系统(DM1000, Leica 德国),切片刀(819, Leica 德国),微量注射器($50\text{ }\mu\text{L}$, 上海高鸽公司)。

1.3 KOA模型制备

本实验采用目前研究疼痛OA模型最合适的方法——大鼠膝关节腔内注射MIA溶液进行KOA模型的制备^[9]。先将各组大鼠的右膝关节脱毛,然后依次用2%的异氟烷轻度麻醉。确定大鼠麻醉好后将其放置在平台上,左手保持将大鼠右膝关节屈曲 90° 的状态,以保证关节腔充分被打开,右手触摸确定关节各个解剖结构的位置,先用75%的乙醇消毒局部皮肤,然后持微量注射器针头紧靠髌韧带两侧髌骨下方对准股骨髁方向进针,当感到明显的落空感时即已进入关节腔内^[10]。向KOA、ST36、ST35、GB34组大鼠右侧膝关节腔内注射MIA溶液($1\text{ mg}\cdot 50\text{ }\mu\text{L}^{-1}$);Con组大鼠右侧膝关节腔内注射生理盐水($1\text{ mg}\cdot 50\text{ }\mu\text{L}^{-1}$)。造模结束后第7天,采用随机数字表法从各组随机抽取2只大鼠,综合运用足底机械痛阈和关节软骨电镜病理形态(观察关节软骨的轮廓形态、厚度、表面毛糙度等信号改变情况)以评价模型成功与否^[11],若机械痛阈明显降低且关节软骨的轮廓形态遭到破坏,软骨表面变得晦暗粗糙即说明造模成功。

1.4 干预方法

在造模7天后采用温和灸的干预方法治疗ST36、ST35、GB34组。根据《实验针灸学》分别选取患侧“足三里”、“犊鼻”、“阳陵泉”,在干预开始前用剃毛机将实验动物相应腧穴局部体毛去除,随后将大鼠抓取置于特制木棍上固定,用酒精棉球擦拭施灸部位,每次施灸前都用马克笔标记出相应腧穴位置,以便施灸精确定位,并且在治疗过程中常揣穴确保施灸准确。选用季福堂艾条(规格为:直径4 mm×长度120 mm),在距离大鼠右侧选定腧穴约1 cm处进行温和灸,每日艾灸1次,每次30 min,7天为1个疗程,共3个疗程。Con组和KOA组采用相同的方法进行抓放、固定,不

予其他特殊处理。

1.5 取材及指标检测

1.5.1 行为学检测

在模型建立前1天、造模后第7、14、21、28天,采用Electric Von Frey电子测痛仪测定大鼠患侧足底机械刺激痛阈值(MWT)。手持测痛仪将针头垂直置于大鼠右足底脚垫之间的部位,并缓慢施加压力,直到大鼠感到疼痛突然将右足撤回,此时仪器屏幕上的数据即是该大鼠的痛阈值,但需排除自主运动,此动作不被视为撤退反应。每只大鼠测量3次取平均数,每次测量需间隔2 min,测试只能在大鼠清醒、安静、不睡觉也不梳理时进行^[12]。

1.5.2 组织取材

在治疗的第21天完成测痛后立即取材。各组大鼠称重,用1%的戊巴比妥钠溶液($0.6\text{ mL}\cdot 100\text{ g}^{-1}$)腹腔注射麻醉。将大鼠仰卧固定在手术台上,腹部常规消毒后,用手术剪沿腹正中线剪开腹腔,充分暴露腹主动脉,一次性抗凝采血管采集腹主动脉血5 mL,静置1 h后, $4000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心20 min,微量移液器提取收集上清液,置于 -80°C 低温冰箱保存。大鼠处死后,剥离膝关节附近组织,将整个膝关节取下置于4%多聚甲醛固定液中,然后用EDTA脱钙液处理,脱钙完成后常规石蜡包埋切片($5\text{ }\mu\text{m}$)。

1.5.3 ELISA法检测大鼠血清TNF- α 、MMP-13的表达

使用大鼠ELISA试剂盒检测血清TNF- α 、MMP-13浓度水平。首先设置空白孔、标准品孔和待测样品孔,依据说明书依次加入相应的液体,加样完成后用封板膜封板后置 37°C 温育60 min,取出后将液体倒出甩干,加入配置好的洗涤液,如此重复5次。然后分别依次加入显色剂A和B, 37°C 避光显色15 min,最后加入终止液以终止反应,15 min内用酶标仪在450 nm处测吸光度(OD值),以Excel绘制标准曲线,按样品读数换算并计算样品含量^[11]。

1.5.4 番红固绿染色法观察关节软骨组织病理形态情况并进行OARSI评分

石蜡切片脱蜡至水,切片先入固绿染液5–10 min,自来水冲洗后放入番红染液15–30 s,无水乙醇快速脱水,二甲苯透明5 min,中性树胶封片,分别用低倍和高倍光学显微镜镜检,并采用国际骨关节炎研究协会OARSI软骨组织病理学评分标准进行评分^[13]。

1.5.5 免疫组化法检测大鼠关节软骨和滑膜TNF- α 、MMP-13的表达

组织经梯度酒精脱水、二甲苯透明后包埋切片($4\text{ }\mu\text{m}$),染色观察目标阳性表达情况,并采用显微成像系统拍照记录,每个样品选择3个阳性区域进行拍照,Image Pro Plus 6.0软件对照片进行光密度分析。

1.6 统计学处理

采用SPSS 26.0软件对实验数据进行统计学分析,Graphpad Prism 8.0软件制作统计图。各组实验数据均进行正态与方差齐性检验,符合条件后,分析MWT数据采用重复测量方差分析,其余数据采用单因素方差分析,以均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两两比较采用LSD法,以 $P<0.05$ 作为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠足底机械痛阈值比较

在Day0,各组大鼠的足底机械痛阈值无明显差异($P>0.05$),表明基线一致。在Day 7(造模7天后),与Con组比较,KOA组大鼠足底机械痛阈值明显降低($P<0.001$),提示造模成功。在Day 14(治疗7天),与KOA组比较,ST35、ST36、GB34组大鼠足底机械痛阈值无明显变化($P>0.05$)。在Day 21(治疗14天),与KOA组比较,ST36、ST35和GB34组大鼠足底机械痛阈值均上升($P<0.001$);与ST35组比,ST36和GB34组上升显著($P<0.01$)。在Day 28(治疗21天),与KOA组比较,ST36、ST35和GB34组大鼠足底机械痛阈值上升更明显($P<0.001$),但3个治疗组间互相比无统计学差异。见图1。

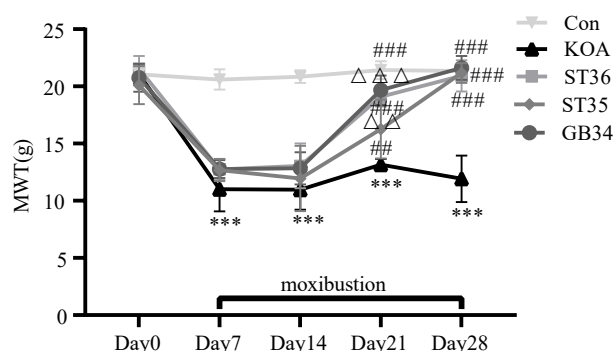


图1 各组大鼠干预前后足底机械痛阈值比较($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

注:与Con组比较,*** $P<0.001$;与KOA组比较,## $P<0.01$,### $P<0.001$;与ST35组比较,△△ $P<0.01$,△△△ $P<0.001$ 。ST36为足三里,ST35为犊鼻,GB34为阳陵泉。

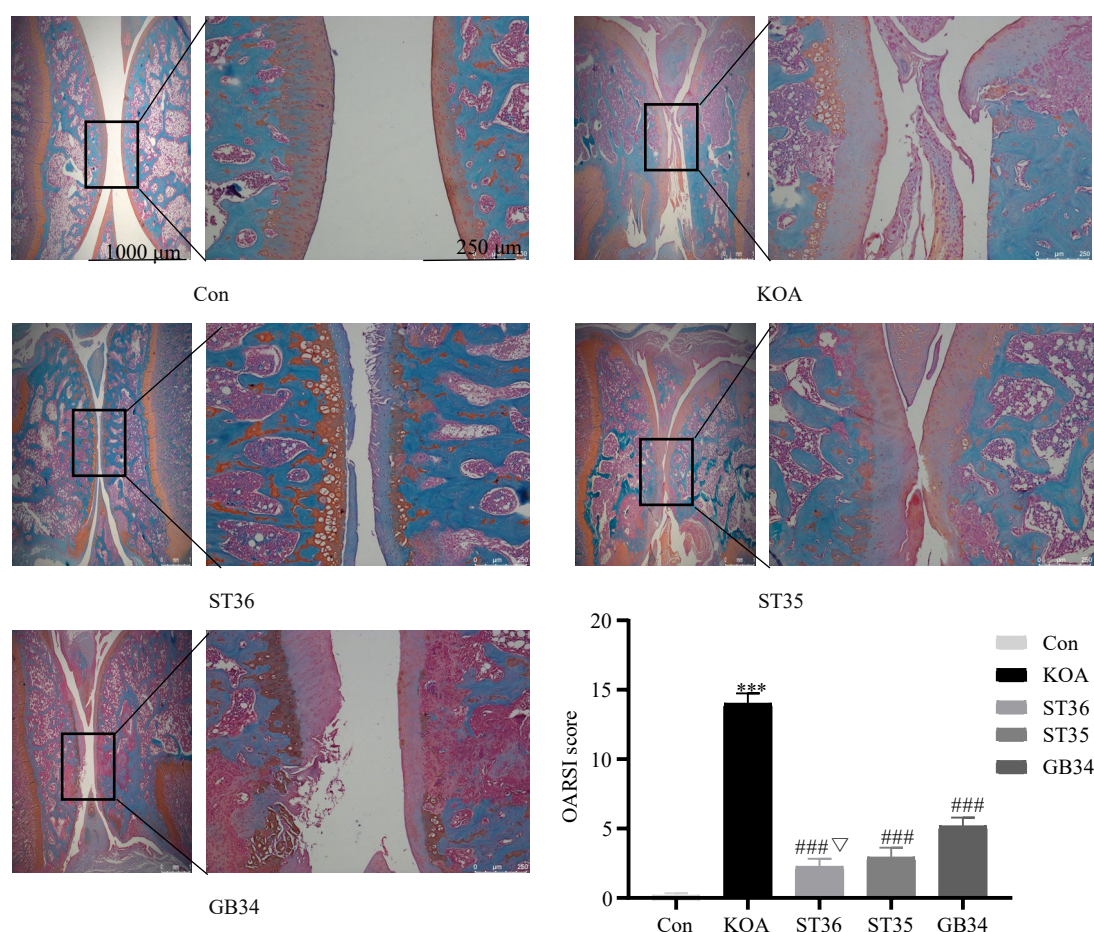


图2 各组大鼠番红固绿染色及OARSI评分比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

注:与Con组比较,*** $P<0.001$;与KOA组比较,### $P<0.001$;与GB34组比较,▽ $P<0.05$ 。ST36为足三里,ST35为犊鼻,GB34为阳陵泉。

2.2 各组大鼠番红固绿染色及OARSI评分比较

与Con组比较,KOA组大鼠关节OARSI评分明显升高($P<0.001$),损伤严重。与KOA组比较,ST36、ST35和GB34组的OARSI评分均降低,有显著统计学差异($P<0.001$)。与GB34组比较,ST36组的评分更低($P<0.05$)。见图2。

2.3 各组大鼠血清TNF- α 、MMP-13表达的比较

与Con组比较,KOA组大鼠的TNF- α 和MMP-13水平明显升高($P<0.001$)。与KOA组比较,ST36、ST35和GB34组TNF- α 和MMP-13表达水平均降低($P<0.001, P<0.05$);与ST36组比较,ST35组的TNF- α 下降更明显($P<0.01$);与GB34比,ST35组的MMP-13下降更显著($P<0.01$)。见图3。

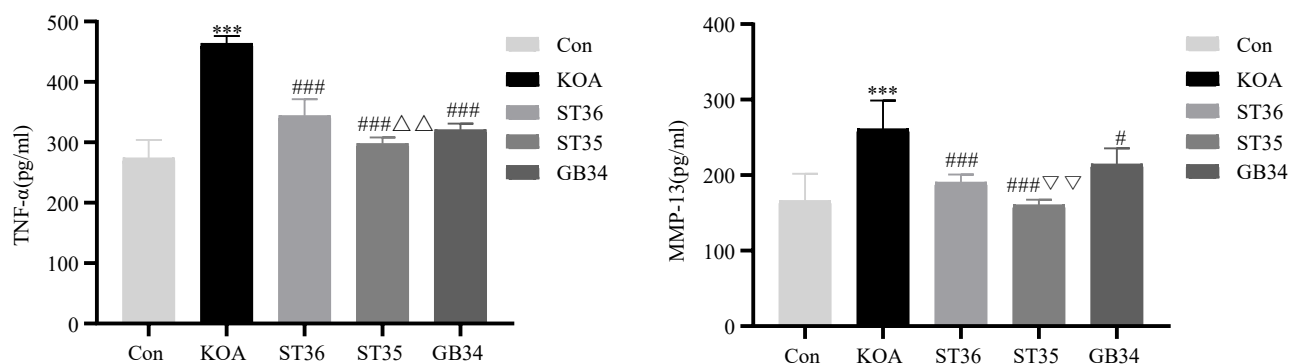
2.4 各组大鼠关节软骨和滑膜TNF- α 、MMP-13表达的比较

与Con组比较,KOA组的关节软骨TNF- α 与滑膜

TNF- α 、MMP-13表达都明显上升($P<0.001, P<0.05$),软骨MMP-13上升不明显($P>0.05$)。与KOA组比较,ST36组的软骨TNF- α 与滑膜TNF- α 、MMP-13下降($P<0.001, P<0.05$);ST35组的软骨TNF- α 与滑膜MMP-13下降($P<0.001, P<0.01$),滑膜TNF- α 下降没有统计学差异($P>0.05$);GB34组软骨与滑膜TNF- α 表达水平降低($P<0.001, P<0.01$),滑膜MMP-13下降无统计学意义($P>0.05$)。见图4。

3 讨论

腧穴是结构与功能的统一体^[14],腧穴结构是针灸发挥生物学效应的载体,现代研究认为腧穴是由多元已知结构,如血管、神经纤维等,按一定规律进行空间布局和立体构筑所共同组建的一个综合体^[15];腧穴功能状态对腧穴功效的发挥具有显著影响,因为在生理与病理状态下,腧穴的功能状态不一致,在生理情况下

图3 各组大鼠血清TNF-α、MMP-13表达的比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

注:与Con组比较,*** $P<0.001$;与KOA组比较,### $P<0.001$;与GB34组比较,▽▽ $P<0.01$;与ST36组比较,△△ $P<0.01$;ST36为足三里,ST35为犊鼻,GB34为阳陵泉。

穴位处于一种潜伏、沉寂的不显现状态,在疾病状态下则处于一种动态、变化的显现状态^[16],而腧穴功效是提高针灸临床疗效的基础,故与腧穴结构相比,腧穴功效可能对实现针灸临床疗效更具意义^[2]。不同腧穴之间的功效差异,是近年针灸研究关键点,而且大量研究结果均表明不同腧穴之间的治疗效应具有相对特异性^[17],笔者认为腧穴特异性的功效特点主要表现为:①不同腧穴治疗不同的疾病,其功效具有特异性;②不同腧穴治疗同一种疾病,其功效侧重点有差异。

膝骨性关节炎属于祖国医学“膝痹病”范畴,又称为“骨痹”。关于其病因病机,《素问·痹论篇》记载“风寒湿三气杂至,合而为痹也,其风气胜者为行痹,寒气胜者为痛痹,湿气胜者为着痹也”。将其概括为多以肝肾气血亏虚,合而外感邪气,或久劳积伤所致的局部气血不通,引起“不通则痛”的本虚标实之证,大鼠造模后足底机械痛阈值明显下降,关节结构损伤显著,表明采用MIA注射膝关节腔可以制备典型的KOA模型。王瑞涵等^[18]通过检索近20年针灸治疗KOA的临床观察类文献发现犊鼻是最核心的腧穴,其次是阳陵泉、阴陵泉、足三里和血海。《针灸资生经》载:“膝及膝下病,宜灸犊鼻、膝关、三里、阳陵泉,然须按其穴酸疼处灸之,方效。”《灵枢》有言“著痹不去,久寒不已,卒取其三里骨为干”,特别强调足三里对着痹,即关节炎类疾病有独特疗效。《针灸大成》有云:“犊鼻,主膝中痛不仁、难跪起、脚气。”犊鼻是足阳明胃经经穴,位于膝部,与脾经相表里,同时阳明经为多气多血之经,针刺局部穴位可使脾胃健运而气血旺行以濡养膝关节。《针灸甲乙经》中载有阳陵泉主“髀痹引膝股外廉痛不仁,筋急”。阳陵泉为足少阳胆经的合穴,且膝为筋之腑,而筋会阳陵泉,凡属伤筋,无论缓急,取之可

疏调筋脉、活血通经止痛。基于以上现代数据分析结果和中医学的认识,本研究选择足三里、犊鼻和阳陵泉作为治疗KOA大鼠的穴位。

在KOA疾病的进展过程中,有多种炎症介质诱导局部炎性反应,参与关节炎的炎症活动^[19]。TNF-α作为其中的关键炎症因子,主要作用于炎症早期,从而影响软骨基质降解及关节软骨破坏。而由软骨细胞和成纤维细胞产生的MMP-13在MMPs家族中被认为是软骨ECM损失的强力杀手^[20],在OA的形成与发展中起关键作用。从以下3个方面对本实验的研究结果进行分析:①镇痛作用:艾灸三穴都可以起到镇痛作用,但却存在治疗效应的强度与时间差异。分别艾灸足三里、犊鼻、阳陵泉14天就可缓解膝骨性关节炎的疼痛,其中,阳陵泉和足三里的镇痛作用优于犊鼻;各组21天后的镇痛作用较14天更明显,但穴位间的差异消失。②抗炎作用:艾灸三穴都可以从整体和局部调节炎症因子TNF-α起到抗炎作用,但有具体作用部位和调节程度的差异。在血清整体层面,犊鼻表现出效应优势;在局部软骨方面,3个腧穴的作用差异不明显;在局部滑膜方面,仅足三里和阳陵泉有效,犊鼻无显著作用。③缓解关节损伤作用:艾灸三穴都可以缓解关节损伤,但同样存在具体作用部位和调节程度的差异。在OARSI评分方面,足三里有优势;在局部滑膜方面,足三里和犊鼻的效应明显,犊鼻最佳,阳陵泉作用不显著;在局部软骨方面,3个腧穴无明显作用。

综上所述,艾灸足三里、犊鼻、阳陵泉都可以通过镇痛、抗炎、缓解关节损伤的途径治疗KOA,但每个腧穴发挥效应的侧重点不同,属于腧穴特异性功效特点的第二类情况。足三里主要影响关节整体结构,对滑膜TNF-α、MMP-13都有效;犊鼻主要影响血清TNF-

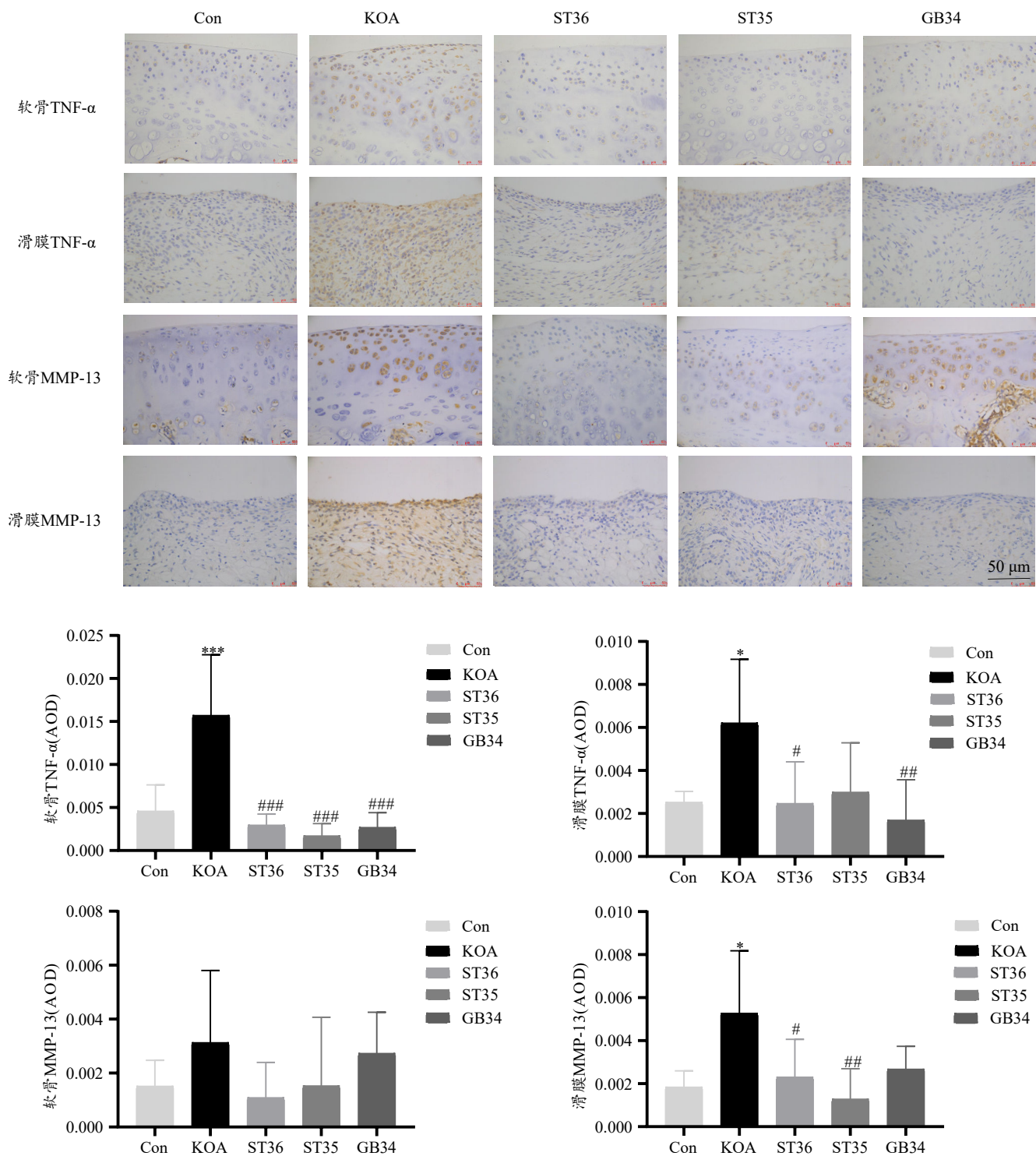


图4 各组大鼠关节软骨和滑膜 TNF-α、MMP-13 表达的比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

注:与 Con 组比较,* $P<0.05$,*** $P<0.001$;与 KOA 组比较,## $P<0.01$,### $P<0.001$;ST36 为足三里,ST35 为犊鼻,GB34 为阳陵泉。

α、MMP-13 和滑膜 MMP-13;阳陵泉主要影响滑膜 TNF-α,表现出共性基础上的特异性,由此推测其作用机制也可能存在一定差异,故需要对腧穴治疗效应的具体作用途径进行进一步实验研究。且由于艾灸

14 天时不同腧穴的镇痛作用有差异,需要开展治疗周期为 14 天的动物实验,通过进一步分析治疗 14 天和 21 天的 TNF-α、MMP-13 等指标以研究腧穴治疗疾病的作用途径是否具有时效特点。

参考文献

- 1 Lu L M, Zhang Y Q, Tang X R, *et al.* Evidence on acupuncture therapies is underused in clinical practice and health policy. *BMJ*, 2022, 376:e067475.
- 2 吴巧凤, 蔡定均, 余曙光. 膻穴功效研究现状与展望. *中华中医药杂志*, 2020, 35(10):4785-4787.
- 3 张永亮, 宓铁群, 刚嘉鸿, 等. 温针灸对膝关节炎大鼠关节软骨及形态的影响. *中国针灸*, 2016, 36(2):175-179.
- 4 郑倩华, 吴强, 蒋一璐, 等. 针刺不同敏化状态穴位对KOA模型大鼠的关节软骨形态和关节腔液炎症因子的作用. *时珍国医国药*, 2020, 31(4):982-985.
- 5 Fu Y B, Li B, Sun S F, *et al.* Fire acupuncture for mild to moderate knee osteoarthritis: A protocol for a randomized controlled pilot trial. *Trials*, 2019, 20(1):673.
- 6 O'Neill T W, McCabe P S, McBeth J. Update on the epidemiology, risk factors and disease outcomes of osteoarthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2018, 32(2):312-326.
- 7 Gao Y J, Liu L, Li B, *et al.* Evaluation of the efficacy and safety of fire needle compared to filiform needle on knee osteoarthritis: Study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 2020, 21(1):911.
- 8 鹿秀云, 王锋, 颜志浪, 等. 艾灸疗法对膝关节骨性关节炎患者临床疗效的系统评价. *光明中医*, 2019, 34(10):1615-1620.
- 9 Pitcher T, Sousa-Valente J, Malcangio M. The monoiodoacetate model of osteoarthritis pain in the mouse. *J Vis Exp*, 2016(111):53746.
- 10 周康, 叶妙勇, 马珂, 等. 碘乙酸致大鼠膝关节炎疼痛模型的实验研究. *浙江中西医结合杂志*, 2020, 30(3):202-206.
- 11 李志娟, 王鑫, 孙敬青, 等. 火针对膝关节炎大鼠关节功能及炎症反应的影响. *针刺研究*, 2020, 45(3):220-226.
- 12 Di Cesare Mannelli L, Micheli L, Zanardelli M, *et al.* Low dose native type II collagen prevents pain in a rat osteoarthritis model. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 2013, 14:228.
- 13 徐兆辉. 补肾调肝方对膝关节炎大鼠软骨SOX9、Runx2表达的影响. 广州: 广州中医药大学硕士学位论文, 2019.
- 14 范郁山, 贺彩, 周诗琪, 等. 从能量学角度探讨影响膻穴功能的因素. *中国针灸*, 2021, 41(5):521-524.
- 15 余琛. 针刺与艾灸对膻穴局部显微结构影响的组织化学研究. 北京: 中国中医科学院硕士学位论文, 2019.
- 16 朱兵. 论穴位与穴位特异性. *中国针灸*, 2021, 41(9):943-950.
- 17 张静莎, 马坤, 耿连岐, 等. 膻穴的特异性研究进展. *中华中医药杂志*, 2018, 33(11):5045-5048.
- 18 王瑞涵, 薛平聚, 邢海娇, 等. 针灸治疗膝骨性关节炎膻穴配伍规律的复杂网络分析. *针刺研究*, 2022, 47(1):65-70.
- 19 孙桂芳, 张雪锋, 茅瑜, 等. 温针灸治疗轻中度膝关节炎疗效观察及其对TLR4/NF- κ B信号通路的影响. *上海针灸杂志*, 2021, 40(12):1452-1457.
- 20 唐金烁, 周忠圣, 肖建林, 等. 骨性关节炎发病机制的研究进展. *中国骨伤*, 2021, 34(10):985-990.

Effects of Moxibustion at Different Acupoints on the Expression of TNF- α and MMP-13 in Different Tissues of KOA Rats

Li Mingjing, Zhang Jianqiang, Guo Jing, Wang Cheng, Yuan Jun, Zhou Haiyan, Yu Shuguang
(Department of Acupuncture-Moxibustion and Tuina, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China)

Abstract: Objective To observe the effect of moxibustion at different acupoints on the expression of TNF- α and MMP-13 in serum, articular cartilage and synovium of rats with knee osteoarthritis (KOA), and to explore the specific regulatory effects of moxibustion at different acupoints on KOA rats. Methods Rats were randomly divided into control group (Con), model group (KOA), KOA + Zusanli moxibustion group (ST36), KOA+Yanglingquan moxibustion group (GB34), KOA + Dubi moxibustion group (ST35), 8 in each group. The KOA model was prepared by intra-articular injection of MIA solution. ST36, GB34 and ST35 group moxibustion daily for 30 minutes, 7d as a course of treatment, a total of 3 courses of treatment. The mechanical withdrawal threshold (MWT), Safranin-fixed green staining and OARSI score, and the expressions of TNF- α and MMP-13 in serum, articular cartilage and synovium were analyzed in each group. Results Compared with the Con group, the MWT in the KOA group was decreased, and the OARSI score, serum and articular cartilage and synovial TNF- α , and serum and synovial MMP-13 expressions were significantly increased ($P<0.001$, $P<0.05$). Compared with the KOA group, the three treatment groups had an increased MWT, OARSI score,

serum TNF- α and MMP-13, and cartilage TNF- α were decreased ($P<0.001$, $P<0.05$), but cartilage MMP-13 had no significant change ($P>0.05$); low expression of synovium TNF- α and MMP-13 in ST36 group ($P<0.05$); decreased expression of synovium MMP-13 in ST35 group ($P<0.05$); decreased synovium TNF- α in GB34 group ($P<0.01$). Compared with GB34 group, the OARSI score of ST36 group was lower ($P<0.05$), and the serum MMP-13 of ST35 group was significantly decreased ($P<0.01$). Compared with the ST36 group, the serum TNF- α in the ST35 group decreased more significantly ($P<0.01$). Conclusion Moxibustion of different acupoints for KOA exhibits acupoint-specific effects. Zusanli has the greatest scope of action, exerting both overall and local anti-inflammatory effects and relieving joint damage; Dubei focuses on overall anti-inflammation; Yanglingquan focuses on local synovial anti-inflammation.

Keywords: Knee osteoarthritis, Moxibustion, ST36, GB34, ST35, Special effect

(责任编辑: 刘玥辰)