

☆ XXXX ☆

基于BMP5/p38MAPK信号通路探讨针刀干预膝 关节骨关节炎兔软骨细胞衰老的作用机制

曹雨微^{1,2}, 王 敏³, 李 凯¹, 张 哲⁴, 安 康⁵, 尹 晶⁶, 张照庆^{1,3}⁽¹⁾武汉市第三医院疼痛康复科, 武汉 430000; ⁽²⁾上海中医药大学针灸推拿学院, 上海 201203;⁽³⁾湖北中医药大学针灸骨伤学院, 武汉 430061; ⁽⁴⁾蚌埠市第三人民医院康复医学科, 安徽蚌埠 233000; ⁽⁵⁾松原市中西医结合医院骨伤科, 吉林松原 138000; ⁽⁶⁾武汉大学人民医院康复医学科,

武汉 430060)

【摘要】 目的:基于软骨细胞衰老视角,观察针刀干预对膝关节炎(KOA)兔软骨组织衰老相关蛋白表达的影响,并从骨形态发生蛋白5(BMP5)/p38丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)信号通路探讨其作用机制。**方法:**将24只雄性新西兰兔随机分为正常组、模型组、针刀组和激动剂组,每组6只。模型组、针刀组与激动剂组采用改良Videman法对左后肢进行伸直位固定制动6周建立KOA模型。造模成功后,针刀组于膝关节周围高应力点行针刀松解治疗,每周1次,连续4周;激动剂组在针刀干预基础上,于关节腔内注射p38MAPK通路激动剂(0.5 mg/kg)。干预后,采用改良奎森功能障碍指数评分(Lequesne MG评分)和膝关节被动活动范围(PROM)评估膝关节功能;HE染色和番红-固绿染色观察软骨组织形态,并进行Mankin评分评估软骨组织病理变化;ELISA法检测关节液中基质金属蛋白酶13(MMP-13)和环氧合酶-2(COX-2)含量;Western blot法检测软骨组织中BMP5、p38MAPK、p53、p21蛋白表达;实时荧光定量PCR法检测软骨组织BMP5、p21和MMP-13的mRNA表达水平。**结果:**与正常组比较,模型组兔Lequesne MG评分升高($P<0.01$),PROM减小($P<0.01$);兔膝关节软骨表面变薄,软骨细胞的数量显著减少,潮线结构不清晰,蛋白多糖丢失,Mankin评分升高($P<0.01$);关节液中COX-2、MMP-13含量升高($P<0.01$);软骨组织中BMP5、p38MAPK、p53、p21蛋白表达水平及BMP5、p21、MMP-13 mRNA表达水平升高($P<0.01$)。与模型组比较,干预后针刀组兔Lequesne MG评分显著降低($P<0.01$),PROM评分显著增加($P<0.01$);软骨表面增厚,软骨细胞相对增多,潮线清晰,蛋白多糖显著增多,骨组织结构有所恢复,Mankin评分下降($P<0.01$);关节液中COX-2、MMP-13水平降低($P<0.01$);软骨组织中BMP5、p38MAPK、p53、p21蛋白表达水平及BMP5、p21、MMP-13的mRNA表达水平下降($P<0.01$, $P<0.05$)。与针刀组比较,干预后激动剂组兔各指标均发生逆转($P<0.01$, $P<0.05$)。**结论:**针刀疗法能有效改善KOA家兔的膝关节功能,减轻软骨病理损伤和局部炎症反应。其作用机制可能与抑制BMP5/p38MAPK信号通路,进而下调衰老相关蛋白p53、p21的表达,延缓软骨细胞衰老进程有关。

【关键词】 膝关节炎;针刀;BMP5/p38MAPK通路;软骨细胞衰老

Study on the mechanism of acupotomy intervention on chondrocyte senescence in rabbits with knee osteoarthritis based on the BMP5/p38MAPK signaling pathway

CAO Yu-wei^{1,2}, WANG Min³, LI Kai¹, ZHANG Zhe⁴, AN Kang⁵, YIN Jing⁶, ZHANG Zhao-qing^{1,3} (⁽¹⁾Department of Pain Rehabilitation, Wuhan Third Hospital, Wuhan 430000, China; ⁽²⁾School of Acupuncture-Moxibustion and Tuina, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203; ⁽³⁾College of Acupuncture and Orthopedics, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061; ⁽⁴⁾Department of Rehabilitation Medicine, Bengbu Third People's Hospital, Bengbu 233000, Anhui Province; ⁽⁵⁾Department of Orthopedics, Songyuan Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20251298

引用格式:曹雨微,王敏,李凯,等.基于BMP5/p38MAPK信号通路探讨针刀干预膝关节炎兔软骨细胞衰老的作用机制[J].针刺研究,XXXX,XX(X):1-11.

项目来源:国家重点研发计划项目(No.2023YFC3502701);武汉市中医药科研重点项目(No.WZ24M02)

通信作者:张照庆, E-mail:924360695@qq.com;尹晶, E-mail:37590328@qq.com

Medicine, Songyuan138000, Jilin Province; ⁶Department of Rehabilitation Medicine, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060)

【ABSTRACT】 Objective To observe the effect of acupotomy intervention on the expression of senescence-related proteins in cartilage tissue of rabbits with knee osteoarthritis (KOA) from the perspective of chondrocyte senescence, so as to explore its underlying mechanism of action through the bone morphogenetic protein 5 (BMP5)/p38 mitogen-activated protein kinase (p38MAPK) signaling pathway. **Methods** Twenty-four male New Zealand rabbits were randomly divided into blank control, KOA model, acupotomy, and agonist (Anisomycin) +acupotomy groups, with 6 rabbits in each group. The KOA model was established by fixing the left hind limb in an extension position (the modified Videman fixation method) for 6 weeks. After successful modeling, rabbits of the acupotomy and agonist+acupotomy groups received acupotomy loosening at the high-stress points around the knee joint, once weekly for 4 weeks. The agonist+acupotomy group received intra-articular injection of Anisomycin (0.5 mg/kg, an agonist of p38MAPK) in addition to acupotomy intervention. The knee joint function was assessed using the Modified Lequesne Functional Disability Index Score (Lequesne score) and passive range of motion (PROM) of the knee joint. The cartilage morphological changes were observed via HE and Safranin O-Fast Green staining, and pathological changes were evaluated using Mankin score. The contents of MMP-13 and COX-2 in the synovial fluid were measured by ELISA. The expression levels of BMP5, p38MAPK, p53, and p21 proteins, and BMP5, p21, and MMP-13 mRNAs in the cartilage tissue were detected by Western blot and quantitative real time PCR (RT-qPCR), separately. **Results** After the intervention, compared with the blank control group, the model group showed a significant increase in the Lequesne score, Mankin score, contents of COX-2 and MMP-13, and expression levels of BMP5 and p21 proteins and mRNAs, p38MAPK and p53 proteins, and MMP-13 mRNA ($P<0.01$), and a significant decrease in the PROM ($P<0.01$). Compared with the model group, both the increased and decreased levels of all the indexes mentioned above were reversed by acupotomy ($P<0.05$, $P<0.01$). The effects of acupotomy were apparently superior to those of agonist+acupotomy in downregulating the Lequesne score, Mankin score, contents of COX-2 and MMP-13, and the expression levels of BMP5 and p21 proteins and mRNAs, p38MAPK and p53 proteins, and MMP-13 mRNA ($P<0.05$, $P<0.01$), and in upregulating the PROM score ($P<0.01$). Morphological observation showed that in the model group, the surface of the knee joint cartilage became thinner, with a significant reduction in the chondrocyte number, unclear tidemark structure, and loss of proteoglycans. While in the acupotomy group, the cartilage surface became thicker, the number of chondrocytes were increased, the tidemark became clear, the proteoglycan content was increased, and the bone tissue structure partially recovered. **Conclusion** Acupotomy can effectively improve the knee joint function, mitigate pathological damage of the cartilage, and relieve the local inflammation in KOA rabbits, which may be associated with its functions in inhibiting the BMP5/p38MAPK signaling pathway, thereby downregulating the expression of senescence-related proteins p53 and p21, and delaying the aging process of chondrocytes.

【KEYWORDS】 Knee osteoarthritis; Acupotomy; BMP5/p38MAPK pathway; Chondrocyte senescence

膝关节骨关节炎(KOA)是一种以关节软骨进行性破坏为主要病理特征的退行性疾病,临床表现为疼痛、僵硬及功能障碍,严重影响患者生活质量^[1]。随着人口老龄化加剧,KOA患病率持续上升,而现有治疗手段如非甾体抗炎药和手术等,存在疗效局限或创伤较大等问题^[2]。针刀疗法作为中西医结合的特色技术,通过松解膝周软组织粘连、恢复力学平衡,在改善 KOA 临床症状方面展现出独特优势^[3]。近年来,随着针刀治疗 KOA 机制研究的深入,多项研究从炎症反应、免疫、细胞死亡(如铁死亡、自噬)等多维度丰富了针刀多靶点治疗 KOA 的内涵^[4-8]。然而,KOA 作为一种与年龄密切相关的退行性疾病,针刀是否通过干预软骨细胞衰老这一

KOA 核心环节发挥作用,尚需深入探讨。软骨细胞衰老是推动 KOA 进展的关键因素。衰老软骨细胞通过分泌衰老相关分泌表型(SASP)释放促炎因子、趋化因子和基质金属蛋白酶(MMPs),破坏关节微环境稳态,加速软骨基质降解^[9]。p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)信号通路作为细胞应激与衰老的核心调控通路,在 KOA 软骨中活化水平显著升高,可诱导 p53、p21 等衰老相关蛋白表达,进而促进软骨退变^[10]。近年研究显示,骨形态发生蛋白 5 (BMP5)作为 KOA 的易感基因,在患者血清中表达上调,且其异常激活可以通过 p38MAPK 信号通路影响细胞周期进程^[11-13],提示 BMP5/p38MAPK 通路可能是连接机械应力与软骨细胞衰老的重要桥

梁,但针刀疗法是否通过该通路延缓KOA进展,目前尚未明确。因此,本研究观察针刀干预对KOA家兔膝关节功能、软骨病理及细胞衰老的影响,探讨针刀干预对BMP5/p38MAPK信号通路的调控作用,旨在为针刀治疗KOA提供新的实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物与分组

清洁级6月龄健康雄性新西兰兔24只,体质量2.0~2.5 kg,由湖北逸挚诚生物科技有限公司提供,实验动物生产许可证号:SCXK(鄂)2021-0020。所有家兔单笼饲养于武汉市第三医院国家级实验动物中心的屏障环境内,饲养环境恒温,温度维持在18~22℃,相对湿度40%~60%,并遵循12 h/12 h的明暗交替光照循环。实验期间动物自由进食饮水,定期更换垫料并对饲养空间进行紫外线消毒。本实验方案经武汉市第三医院实验动物伦理委员会审查批准(伦理批准号:SY2024-021)。所有家兔在实验前适应性饲养1周,采用随机数字表法分为正常组、模型组、针刀组、针刀加激动剂组(以下简称激动剂组),每组6只。

1.2 主要仪器与试剂

一次性无菌针刀(0.4 mm × 40 mm,江苏华友),高分子树脂绷带(15 cm × 180 cm,揭西泰洲),电泳仪、转膜仪(上海天能),蛋白显影仪(上海嘉鹏),Image J软件(美国NIH),基因扩增仪(伯乐生命医学),实时荧光定量PCR仪(美国赛默飞),酶标仪(南京贝登),微量分光光度计(北京鼎国昌盛),切片机(上海徠卡),显微镜(日本奥林巴斯),标康数显角度尺(上海益宇)。

4%多聚甲醛、苏木精-伊红(H&E)高清恒染试剂盒、番红固绿染液(武汉赛维尔),p38MAPK激动剂Anisomycin(上海碧云天),基质金属蛋白酶13(MMP-13)和环氧合酶-2(COX-2)试剂盒(泉州睿信),p53、p21、p38MAPK抗体(武汉三鹰),BMP5抗体(美国LSBio),山羊抗兔二抗、RIPA裂解液、BCA蛋白定量试剂盒、ECL发光液(武汉赛维尔),实时荧光定量PCR实验试剂如RNA提取试剂盒、反转录试剂盒、荧光定量PCR试剂盒均购自武汉赛维尔。

1.3 造模方法

采用改良后的Videman法^[14]进行左后肢伸直位固定制动。使用3%戊巴比妥钠(1 mL/kg)的剂量腹腔注射麻醉,备皮腹股沟至足踝区域。一名实验人员抱兔并牵拉左后肢,使其膝关节处于完全伸直

位,另一实验人员依次使用医用压敏胶带、泡沫双面胶和高分子绷带,在兔腹股沟至足踝关节区域进行缠绕包裹,使兔保持膝关节伸直180°,踝关节背屈60°,并暴露兔趾以观察血液循环情况。高分子绷带外层用细铁丝网包裹,共制动6周。若造模过程中兔趾有严重水肿,立刻拆除铁丝网和绷带,消肿后重新固定。制动6周后,参考奎森功能障碍指数(Lequesne MG)进行评估,评分≥6分即为造模成功,剔除不符合标准者,造模完成后对所有家兔进行膝关节被动关节活动度(PROM)评估。

1.4 各组处理方法

正常组不做任何处理,与其他组同方法抓取固定。

模型组仅做造模处理,不予针刀治疗,与其他组同方法抓取固定。

针刀组:造模成功后进行针刀干预。将家兔固定在治疗台上,待其相对平静后,暴露膝关节并常规备皮、消毒。对家兔左侧膝关节周围进行触诊,使用龙胆紫笔标记股内侧肌腱、股外侧肌腱、股直肌腱、股二头肌腱以及鹅足腱(缝匠肌、股薄肌及半腱肌的联合腱)等部位,并在附近寻找高应力点进行标记。针刀刀体与皮肤切面垂直刺入,刀口刀刃与肌腱走行方向平行,刺入深度以硬结或条索状物所在位置为度,先行纵向疏通,再辅以横向剥离,松懈2~3次。操作完成后随即拔出针刀,使用医用脱脂纱布块按压创口止血。每周治疗1次,连续治疗4周。

激动剂组:家兔在每次接受针刀干预前30 min,先行p38MAPK激动剂Anisomycin膝关节腔内注射。将Anisomycin用无菌PBS溶解后,按0.5 mg/kg的剂量进行关节腔注射,注射后轻柔活动膝关节以使药物分布均匀。后续操作流程同针刀组。

1.5 观察指标及检测方法

改良后膝关节Lequesne MG法评估膝关节功能:于治疗前和治疗后采用改良后Lequesne MG评估量表对各组家兔患肢膝关节进行评估。该量表从按压后疼痛表现、关节肿胀程度、关节活动度及步态变化4个方面进行评估,具体评分标准见表1。评分越高代表关节损伤及功能受限越严重。所有评估均由两名研究者独立操作,最终数据取平均值用于统计。

PROM检测膝关节被动活动度:于治疗前和治疗后采用数显角度尺对各组家兔患侧膝关节的被动活动范围进行测量。测量时,将轴心对准股骨外

表 1 Lequesne MG 评分标准
Table 1 Lequesne MG scoring criteria

评分内容	0分	1分	2分	3分
按压后疼痛表现	无反应	患肢收缩	轻度全身反应	挣扎抽搐
关节肿胀程度	无	轻度肿胀	明显肿胀	极度肿胀
关节活动度	>90°	≥45°且<90°	≥15°且<45°	<15°
步态变化	正常行走	轻度跛行	跛行明显	患肢不能蹬地

注:Lequesne MG 为奎森功能障碍指数

侧髌,固定臂与股骨长轴平行,移动臂则与胫骨长轴保持一致。分别记录膝关节被动屈曲与伸展至最大幅度时的角度数值,两者之差即为该膝关节的被动活动范围。每只家兔重复测量3次,取其平均值进行统计分析。数值越低,提示关节活动受限越严重。

取材:全部干预及行为学评估结束后,采用空气栓塞法将家兔处死并仰卧位固定。无菌条件下打开左侧膝关节腔,分离并切除前后交叉韧带及周围软组织,完整采集股骨内外侧髌与胫骨内外侧髌周围的关节软骨组织。软骨组织一部分置于4%多聚甲醛中固定;另一部分迅速置于冻存管,投入液氮速冻,随后转移至-80℃冰箱保存。同时,于左膝髌上囊处注入1 mL的0.9%氯化钠溶液冲洗关节腔,轻柔研磨膝关节以混匀关节液后回抽收集,离心15 min后,取上清液分装并保存于-80℃。

HE染色观察软骨组织形态结构:取各组家兔左膝关节软骨组织,经4%多聚甲醛固定72 h后,进行EDTA脱钙处理,随后经梯度乙醇脱水、二甲苯透明,常规石蜡包埋并制备成5 μm厚度的切片。将切片置于60℃烘箱中过夜干燥,经二甲苯脱蜡及梯度乙醇复水后,进行苏木精染色10 min,盐酸乙醇分化,碳酸锂溶液返蓝,再以伊红染液复染1 min。染

色完成后,依次经乙醇梯度脱水、二甲苯透明,中性树胶封固。最后于光学显微镜下观察软骨组织形态结构。

番红-固绿染色观察软骨组织形态并进行Mankin评分:石蜡切片经烘箱加热脱蜡后,依次以二甲苯及100%、95%、85%、75%梯度乙醇进行水化。苏木精染液核染后分化返蓝,随后依次浸入固绿染色液与番红O染液分别染色,以区分纤维组织与蛋白聚糖。染色结束后经梯度乙醇脱水、二甲苯透明,中性树胶封片。于光学显微镜下观察软骨组织形态并采集图像。根据HE染色和番红-固绿染色结果,使用Mankin评分评估软骨组织病理情况。观察细胞形态、基质结构、软骨厚度、软骨下骨等各项指标进行评分,各项指标评分相加得到总分。总分越高,软骨损伤越严重。

ELISA法检测膝关节液COX-2、MMP-13含量:将收集的关节液离心后取上清,依照试剂盒说明书,依次设置空白孔、标准品孔与待测样品孔,分别加入相应液体,经37℃孵育、洗涤后,加入酶标试剂再次孵育。洗涤后每孔加入显色剂A和B各50 μL,避光显色,最后加入终止液终止反应。于酶标仪450 nm波长下测定各孔吸光度值,根据标准曲线计算样本中MMP-13与COX-2的含量。

表 2 Mankin评分标准
Table 2 Mankin scoring criteria

评分项目	0分	1分	2分	3分
软骨结构	表面光滑,结构完整	表面不规则,轻度纤维化	裂隙延伸至软骨中层	裂隙延伸至钙化层,或全层缺损
软骨细胞	细胞形态、数量正常,排列整齐	细胞弥散性增多,可见少量细胞簇	细胞明显增多,细胞簇常见	细胞数量显著减少,可见大片细胞缺失区
番红O染色(蛋白多糖)	全层均匀、深染	表层或中层染色轻度减弱	中层染色明显减弱,或仅深层着色	全层着色显著减弱或完全失染
潮线完整性	潮线清晰、连续、完整	潮线出现重复(双线或多线)	潮线部分中断,血管少量侵入	潮线广泛中断,血管大量侵入

Western blot法检测膝关节软骨组织中BMP5、p38MAPK、p53及p21的蛋白表达水平:将每只家兔-80℃冻存的软骨组织取出约100 mg后,加入含蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液,经组织研磨仪充分破碎,4℃离心10 min后收集上清。采用BCA法测定蛋白浓度并定量。取等量蛋白样品进行10% SDS-PAGE凝胶电泳,随后湿转至PVDF膜。用5%脱脂牛奶室温封闭1 h, TBST洗涤后分别加入BMP5、p38MAPK、p53、p21及 β -actin一抗(BMP5稀释比例为1:500, p38MAPK、p53、p21及 β -actin稀释比例为1:3 000), 4℃孵育过夜。次日经TBST洗涤后,加入相应二抗(稀释比例为1:3 000)室温孵育1 h, ECL化学发光试剂显影,采集图像。使用Image J软件进行统计分析。以目的蛋白条带灰度值与内参条带灰度值的比值为目的蛋白的相对表达量。

实时荧光定量PCR法检测各组家兔膝关节软骨组织中BMP5、p21及MMP-13 mRNA表达水平:取每只家兔软骨组织约100 mg,加入Trizol试剂充分研磨以提取总RNA,测定其浓度与纯度合格后,按照反转录试剂盒说明书操作,将RNA反转录为cDNA。以此cDNA为模板,按照SYBR Green qPCR Master Mix说明书配置反应体系,使用实时荧光定量PCR仪进行扩增。反应程序设置为:95℃预变性2 min;95℃变性15 s, 60℃退火/延伸30 s, 共40个循环。反应结束后进行熔解曲线分析以确认扩增产物的特异性。以 β -actin为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算各目的基因mRNA的相对表达量。引物序列见表3。

表3 引物序列

Table 3 Primer sequences

基因	序列(5'→3')	产物长度/bp
β -actin	上游 CGCAGAAACGAGACGAGATTG	146
	下游 GATGCTCGCTCCAACGACTG	
BMP5	上游 TACGGAACCACGAAAGACGG	114
	下游 TAAAGAGAGGCGCAGACGAC	
P21	上游 TCACGAAGACACCGAGACAC	200
	下游 GACAAAGTCGAAGTTCCAGCG	
MMP-13	上游 GTTTCCCATCTACACCTACACCG	157
	下游 GGCATCAAGGGATAAGGAAGGA	

注:BMP5为骨形态发生蛋白5, MMP-13为基质金属蛋白酶13。

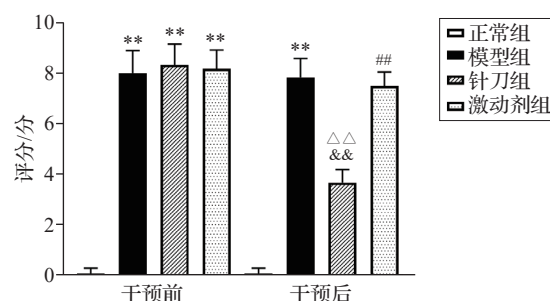
1.6 统计学处理

采用GraphPad Prism8.0软件进行统计分析。所有数据均以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD检验。以 $P\leq 0.05$ 为差异具有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 各组家兔干预前后膝关节Lequesne MG评分比较

在干预前,与正常组比较,其余各组家兔患侧膝关节Lequesne MG评分均升高($P<0.01$),说明各组家兔均造模成功。干预后,模型组评分仍高于正常组($P<0.01$);针刀组的评分较模型组降低($P<0.01$),且高于本组干预前($P<0.01$);激动剂组评分高于针刀组($P<0.01$)。见图1。



注:Lequesne MG为奎森功能障碍指数。与同组干预前比较,* $P<0.01$;与同时点正常组比较,** $P<0.01$;与同时点模型组比较, $\Delta\Delta P<0.01$;与同时点针刀组比较,## $P<0.01$ 。

图1 各组家兔干预前后膝关节Lequesne MG评分比较
($\bar{x}\pm s$, 6只兔/组)

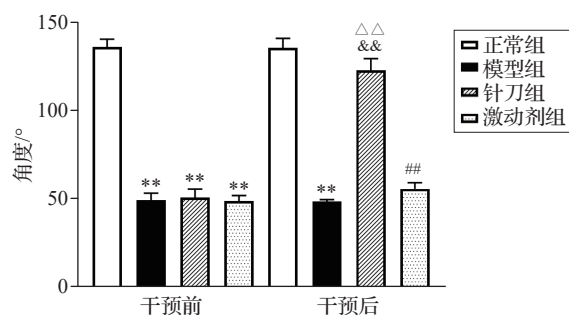
Fig. 1 Comparison of knee joint Lequesne MG scores of rabbits in the 4 groups before and after intervention
($\bar{x}\pm s$, 6 rabbits/group)

2.2 各组家兔干预前后膝关节PROM比较

干预前,与正常组比较,其余各组家兔患侧膝关节PROM均减小($P<0.01$)。干预后,模型组的PROM仍小于正常组($P<0.01$);针刀组的PROM较模型组增大($P<0.01$);激动剂组的PROM小于针刀组($P<0.01$)。见图2。

2.3 各组家兔软骨形态比较

HE染色正常组家兔软骨结构完整,细胞形态规整。模型组呈现典型骨关节炎改变,表面纤维化,细胞排列紊乱伴大面积坏死。针刀组软骨表面轻度不规则,但细胞数量丰富、排列规则,结构完整性明显改善。激动剂组可见多处软骨裂隙及血管翳形成,其病理改变介于模型组与针刀组之间。



注: PROM为被动关节活动度。与同组干预前比较, $^{**} P < 0.01$; 与同时点正常组比较, $^{**} P < 0.01$; 与同时点模型组比较, $^{△△} P < 0.01$; 与同时点针刀组比较, $^{##} P < 0.01$ 。

图2 各组家兔干预前后膝关节PROM评分比较
($\bar{x} \pm s$, 6只兔/组)

Fig. 2 Comparison of knee joint PROM scores of rabbits in the 4 groups before and after intervention
($\bar{x} \pm s$, 6 rabbits/group)

见图3。

番红-固绿染色软骨呈红色、成骨呈绿色。正常组软骨呈均匀红色, 结构完整; 与正常组比较, 模型组软骨细胞数量减少, 小灶性骨组织结构破坏, 蛋白多糖有所丢失; 针刀组软骨基质染色明显加深, 蛋白多糖含量显著恢复, 骨结构改善; 激动剂组的改善程度明显不及针刀组, 仍可见软骨细胞减少及基质染色浅淡, 逆转了针刀促进软骨基质合成的作用。见图4。

2.5 各组家兔膝关节软骨组织Mankin评分比较

与正常组比较, 模型组和激动剂组Markin评分

升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 针刀组评分降低($P < 0.01$); 激动剂组评分高于针刀组($P < 0.01$)。见图5。

2.6 各组家兔膝关节液COX-2、MMP-13含量比较

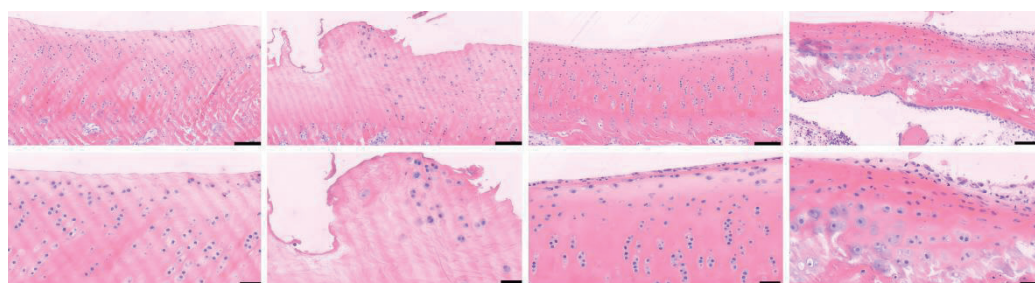
与正常组比较, 模型组膝关节液COX-2和MMP-13含量升高($P < 0.01$)。与模型组比较, 针刀组膝关节液COX-2和MMP-13含量降低($P < 0.01$); 激动剂组COX-2和MMP-13含量高于针刀组($P < 0.01$)。见图6。

2.7 各组家兔膝关节软骨组织中BMP5、p38MAPK、p53及p21的蛋白表达水平比较

与正常组比较, 模型组家兔膝关节软骨组织中BMP5、p38MAPK、p53及p21蛋白表达水平上调($P < 0.01$)。与模型组比较, 针刀组BMP5、p38MAPK、p53及p21蛋白表达下调($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与针刀组比较, 激动剂组BMP5、p38MAPK、p53及p21蛋白表达上调($P < 0.01$, $P < 0.05$)。见图7。

2.8 各组家兔膝关节软骨组织中BMP5、p21及MMP-13的mRNA表达水平比较

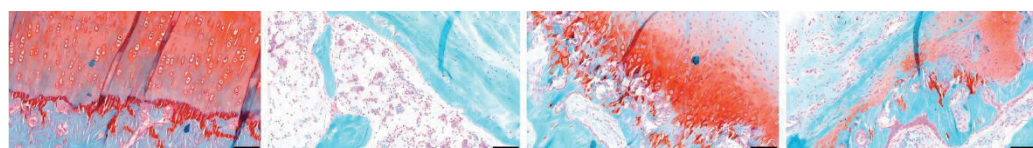
与正常组比较, 模型组家兔膝关节软骨组织中BMP5、p21及MMP-13的mRNA表达量上调($P < 0.01$)。与模型组比较, 针刀组中BMP5、p21及MMP-13的mRNA表达量下调($P < 0.01$)。与针刀组比较, 激动剂组BMP5、p21及MMP-13mRNA表达量上调($P < 0.01$)。见图8。



注: 正常组 模型组 针刀组 激动剂组下排图片为上排图片的局部放大图, 上排标尺=100 μm , 下排标尺=40 μm 。

图3 各组家兔膝关节软骨组织形态学比较(HE染色)

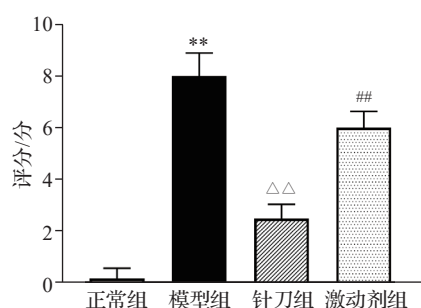
Fig. 3 Comparison of histomorphology in rabbit knee joint cartilage of rabbits in the 4 groups(HE Staining)



注: 正常组 模型组 针刀组 激动剂组标尺=100 μm 。

图4 各组家兔膝关节软骨组织形态学比较(番红-固绿染色)

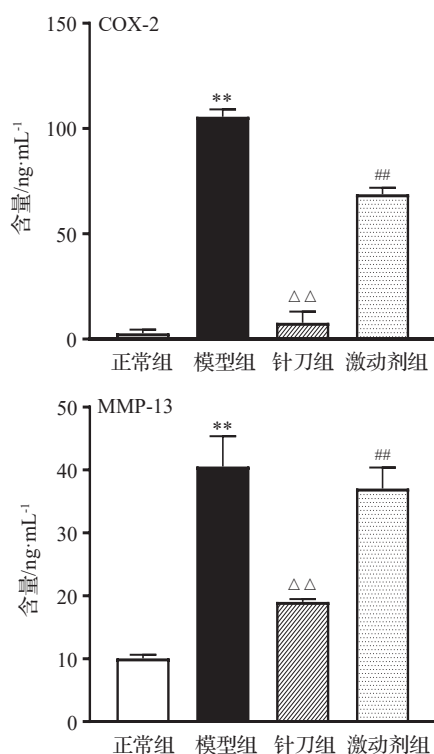
Fig. 4 Comparison of histomorphology of knee joint cartilage of rabbits in the 4 groups (Safranin O-fast green staining)



注:与正常组比较, ** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$;
与针刀组比较, ## $P < 0.01$ 。

图5 各组家兔膝关节软骨组织 Mankin 评分比较
($\bar{x} \pm s$, 6 只兔/组)

Fig. 5 Comparison of Mankin scores in knee joint cartilage of rabbits in the 4 groups ($\bar{x} \pm s$, 6 rabbits/group)



注:COX-2为环氧化酶-2,MMP-13为基质金属蛋白酶13。
与正常组比较, ** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$;
与针刀组比较, ## $P < 0.01$ 。

图6 各组家兔膝关节液 COX-2、MMP-13 含量比较
($\bar{x} \pm s$, 6 只兔/组)

Fig. 6 Comparison of contents of COX-2 and MMP-13 in knee joint of rabbits in the 4 groups ($\bar{x} \pm s$, 6 rabbits/group)

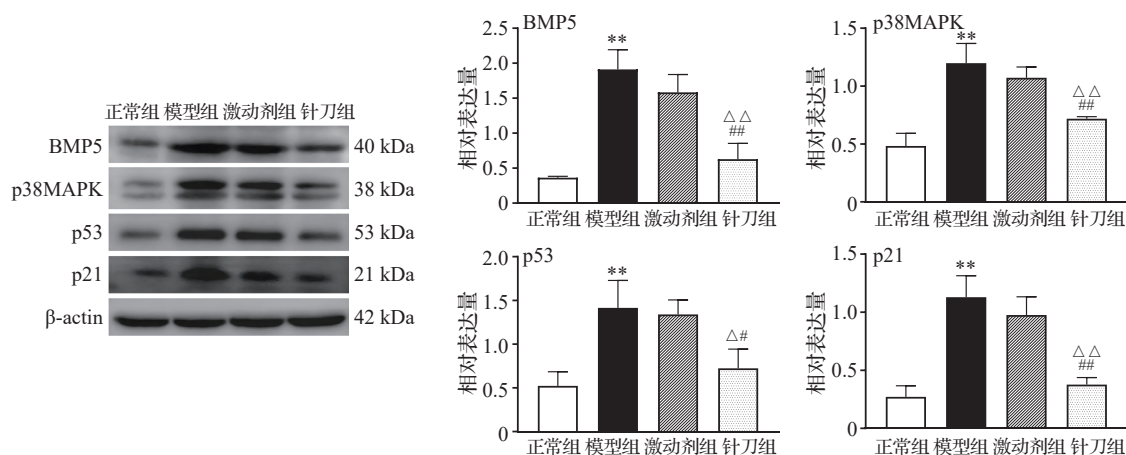
3 讨论

KOA 属中医学“骨痹”“筋痹”范畴,其病机核心为“筋伤致骨损”,经筋粘连、挛缩导致膝周力学失衡,进而累及软骨与骨组织,形成“筋病及骨”的病理链条^[15]。《素问·长刺节论》载:“病在筋,筋挛节痛,

不可以行,名为筋痹”,明确指出经筋病变是关节功能障碍的根本,这一理论为针刀“调筋治骨”的治疗思路提供了依据^[16]。膝为筋之府,肝主筋,肾主骨,中年后肝肾亏虚,气血不足,加之劳损外伤,致气血运行不畅,经络闭阻,发为痹证。针刀疗法融合中医“经筋理论”与现代微创技术,通过松解膝周结筋病灶点如股内侧肌腱、鹅足腱等,解除“横络”对经脉的卡压,恢复“筋束骨”的力学平衡^[17]。临床实践^[18-19]表明,针刀治疗 KOA 疗效确切,能显著改善关节疼痛及功能,且安全性较高。本研究结果表明,针刀干预能显著改善 KOA 家兔的关节功能与软骨组织病理损伤,有效减轻软骨组织炎性浸润及基质降解等病理表现,为揭示“调筋治骨”的科学内涵提供了依据。

近年来,随着针刀治疗 KOA 机制研究的深入,多项研究从不同信号通路揭示了其治疗潜力。有研究表明,针刀可通过骨保护素(OPG)/核因子 κ B受体活化因子配体(RANKL)/核因子 κ B(NF- κ B)、磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(AKT)/活化T细胞核因子 κ 1(NFAT κ 1)等通路抑制骨破坏^[20-21];亦可调控 Notch1 受体(Notch1)/Jagged1 配体(Jagged1)/发状分裂相关增强子1(Hes1)轴以促进巨噬细胞 M2 极化,减轻滑膜炎^[4];还可通过抑制机械敏感离子通道 Piezo1(Piezo1)/谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)/长链酰基辅酶A合成酶4(ACSL4)信号轴或热休克蛋白A5(HSPA5)/GPX4通路抵抗软骨细胞铁死亡^[6-7],或通过促进PTEN诱导激酶1(PINK1)/Parkin蛋白(Parkin)介导的线粒体自噬^[8]、抑制脂质过氧化^[5]等途径保护软骨。这些研究从炎性、免疫、细胞死亡等多维度丰富了针刀多靶点治疗 KOA 的内涵。与既往研究不同,本研究将机制探讨上溯至驱动 KOA 慢性进展的更上游源头——软骨细胞衰老。

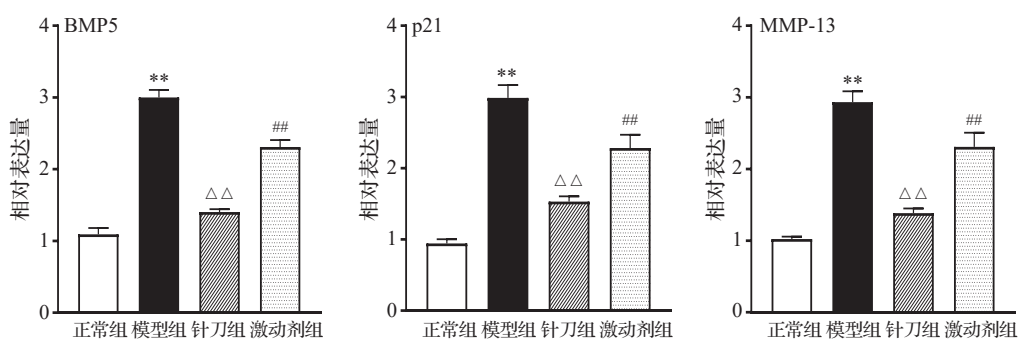
软骨细胞衰老是 KOA 软骨退变的核心环节。KOA 病变程度与关节内衰老软骨细胞数量呈正相关,且这些细胞多聚集于软骨磨损区域^[22]。衰老软骨细胞通过分泌 SASP,持续释放包括白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)在内的多种促炎因子及 MMPs,从而导致关节微环境稳态失衡,加速细胞外基质降解^[9]。SASP 中包含的促炎因子可通过旁分泌效应损伤周围正常软骨细胞,而 MMPs 家族成员则直接破坏软骨基质结构,形成衰老-炎性-降解的恶性循环。在此过程中,p53-p21 信号通路是调控细胞衰老的关键途径。p53 作为重要抑癌



注: BMP5 为骨形态发生蛋白 5, p38MAPK 为 p38 丝裂原活化蛋白激酶。与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与针刀组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 7 各组家兔膝关节软骨 BMP5、p38MAPK、p53 及 p21 的蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$, 6 只兔/组)

Fig. 7 Comparison of protein expression levels of BMP5, p38MAPK, p53, and p21 in knee joint cartilage of rabbits in the 4 groups ($\bar{x} \pm s$, 6 rabbits/group)



注: BMP5 为骨形态发生蛋白 5, MMP-13 为基质金属蛋白酶 13。与正常组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与针刀组比较, ## $P < 0.01$ 。

图 8 各组家兔膝关节软骨 BMP5、p21 及 MMP-13 的 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$, 6 只兔/组)

Fig. 8 Comparison of mRNA expression levels of BMP5, p21, and MMP-13 in knee joint cartilage of rabbits in the 4 groups ($\bar{x} \pm s$, 6 rabbits/group)

基因,可响应 DNA 损伤、机械应激等信号而上调,进而激活下游靶点 p21,诱导细胞周期停滞于 G1 期,促使软骨细胞退出增殖周期并进入不可逆衰老状态^[23]。本研究结果显示,KOA 模型家兔软骨中 p53、p21 蛋白及 p21 的 mRNA 表达显著升高,表明软骨细胞衰老深度参与 KOA 病理进程。此外,衰老细胞通过 SASP 大量分泌炎症因子及基质降解酶,其中 COX-2 作为关键炎症介质,可促进前列腺素 E2 合成,加剧关节疼痛与滑膜炎^[24];MMP-13 则是降解软骨基质 II 型胶原的核心酶类,其活性升高可直接破坏软骨基质完整性,加速软骨退变^[25]。本研究中模型组关节液内 COX-2、MMP-13 含量显著上升,进一步证实 SASP 在 KOA 进展中的驱动作用。针刀干预后,不仅 p53、p21 表达显著下调,

COX-2、MMP-13 水平也同步降低,提示针刀可能通过源头性抑制软骨细胞衰老,减少 SASP 释放,从而延缓软骨退变。此前,有研究同样观察到针刀能下调 p16^{Ink4a}、p21^{Waf1/Cip1} 等衰老相关标志物^[26]。本研究不仅验证了衰老表型的改善,更进一步上游锁定并功能学验证了一条全新的调控轴——BMP5/p38MAPK。

BMP5 作为骨形态发生蛋白家族成员,近年来被发现在 KOA 软骨中异常高表达,其作为 KOA 易感基因可能通过非 Smad 途径参与疾病调控。基于 Sharma 等的研究,BMP5 基因多态性(如 rs921126、rs1470527 和 rs9382564)与 KOA 发病风险显著相关。其中,T 等位基因及 TT 基因型显著增加 KOA 易感性,且与更严重的临床症状相关,提示 BMP5

可能是KOA的重要病理标志物^[27-28]。在机制层面,除经典的Smad通路外,BMP5还能够通过激活p38MAPK参与KOA进展^[12-13]。p38MAPK是细胞应激反应的关键分子,KOA膝周异常机械负荷、炎症刺激等可激活其磷酸化,进而通过磷酸化下游转录因子诱导p53等衰老相关因子表达^[10]。本研究结果显示,KOA软骨中BMP5与p38MAPK表达同步上调,且二者水平均与p53、p21呈正相关,提示BMP5与p38MAPK可能共同构成促衰老信号轴,协同推动软骨细胞衰老。

值得注意的是,BMP5与p38MAPK均被证实为力学敏感信号分子。研究显示,在骨关节炎早期,当软骨尚未出现明显的组织学病变时,关节内的异常机械应力即可诱导BMP5的表达显著上调,提示其在应力介导的软骨下骨重塑及骨赘形成中可能扮演着始动角色^[29]。与此同时,p38 MAPK作为经典的应力敏感通路,其磷酸化水平也直接受力学载荷调控^[30-31],二者在分子层面共同构成了骨关节炎中机械生物学对话的关键环节。基于以上证据,并结合本研究针刀通过松解结筋病灶点以恢复膝周力学平衡的核心干预策略,我们推论BMP5/p38MAPK信号轴很可能是将“筋伤”所致的异常机械刺激,转化为“骨损”相关生物学响应的核心转导桥梁。此外,BMP5/p38MAPK这一力学敏感通路,可能与已知的Piezo1等机械门控通道协同或对话^[31],共同构成针刀力学干预触发的复杂细胞内信号网络,从而系统性地诠释其“调筋治骨”的多维效应。

本研究进一步验证了针刀的作用机制。在针刀干预基础上联合p38MAPK激动剂后,针刀对膝关节功能、软骨病理及衰老相关分子的改善作用均被部分逆转。这一结果提示,针刀的治疗效应高度依赖于对BMP5/p38MAPK通路的调控。若该通路被激动剂重新激活,针刀的抗软骨衰老作用则显著减弱。具体而言,针刀干预通过松解膝周高应力点如股二头肌腱、股直肌腱附着点,消除异常力学刺激对软骨细胞的持续损伤,进而下调BMP5表达,抑制p38MAPK信号活化,最终阻断p53-p21衰老通路。该结果从分子层面阐释了针刀“调筋治骨”的作用机制,即通过“调筋”改善力学环境,通过“治骨”保护软骨细胞。

综上所述,针刀通过调控BMP5/p38MAPK信号通路,降低MMP-13、COX-2等炎症因子与降解酶含量,延缓软骨基质降解,抑制p53、p21介导的软

骨细胞衰老,改善关节功能,从而发挥治疗KOA的作用。此外,本研究尚存一定不足:一是针刀力学信号调控BMP5的转导机制尚未明确。未来需结合体外力学加载模型与机械感受器研究进一步探索;二是p38MAPK下游靶点有待探索,p38MAPK是否通过调控除p53、p21外的转录因子参与软骨细胞衰老,仍需通过免疫共沉淀、双荧光素酶报告基因等技术深入验证;三是缺乏多时间点动态监测数据。本研究仅检测干预4周后的效应,无法明确针刀对BMP5/p38MAPK通路及软骨衰老的长期调控规律,后续需补充不同时间点检测,为优化针刀治疗周期提供依据。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] Gelber A C. Knee osteoarthritis[J]. Ann Intern Med, 2024, 177(9): ITC129-ITC144.
- [2] Dantas L O, Salvini T F, McAlindon T E. Knee osteoarthritis: key treatments and implications for physical therapy[J]. Braz J Phys Ther, 2021, 25(2): 135-146.
- [3] Hua Z J, Deng H, Tang H, et al. Clinical study of acupotomy for knee osteoarthritis based on the meridian-sinew theory: a randomized controlled clinical trial [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021, 2021: 3987002.
- [4] 余文英, 修忠标, 林泽豪, 等. 基于Notch1/Jagged1/Hes1信号通路探讨针刀调控巨噬细胞极化抑制兔膝关节骨关节炎滑膜炎性反应的作用机制[J]. 针刺研究, 2025, 50(6): 649-657.
Yu W Y, Xiu Z B, Lin Z H, et al. Effects of acupotomy therapy on macrophage polarization and inhibition of synovial inflammation in rabbits with knee osteoarthritis based on the Notch1/Jagged1/Hes1 signaling pathway (in Chinese) [J]. Acupuncture Research, 2025, 50(6): 649-657.
- [5] 齐昕, 陈幼楠, 马芸瑄, 等. 针刀对膝关节骨关节炎兔软骨细胞脂质过氧化的影响[J]. 针刺研究, 2025, 50(4): 402-410.
Qi X, Chen Y N, Ma Y X, et al. Effect of acupotomy on lipid peroxidation of chondrocytes in rabbits with knee osteoarthritis (in Chinese) [J]. Acupuncture Research, 2025, 50(4): 402-410.
- [6] 张良志, 刘洪, 黄旺祥, 等. 基于Piezo1/GPX4/ACSL4信号轴探讨针刀抑制软骨细胞铁死亡的作用机制[J/OL]. 针刺研究, 2025-12-25. <https://doi.org/10.13702/j.1000-0607.20251053>.
Zhang L Z, Liu H, Huang W X, et al. Effects of acupotomy therapy on inhibit chondrocyte ferroptosis based on the Piezo1/

- GPX4/ACSL4 signaling axis[J/OL]. *Acupuncture Research*, 2025-12-25. <https://doi.org/10.13702/j.1000-0607.20251053>.
- [7] 孟德鸿, 卢曼, 吴三兵, 等. 基于HSPA5/GPX4信号通路探讨针刀干预膝关节骨关节炎兔软骨细胞铁死亡的作用机制[J]. *中国针灸*, 2024, 44(5): 555-564.
- Meng D H, Lu M, Wu S B, et al. Mechanism of acupotomy on chondrocyte ferroptosis in rabbits with knee osteoarthritis based on HSPA5/GPX4 signaling pathway (in Chinese)[J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2024, 44(5): 555-564.
- [8] 余泽宇, 夏帅, 卢曼, 等. 针刀对膝关节骨关节炎兔软骨PINK1/Parkin通路介导的线粒体自噬的影响[J]. *针刺研究*, 2023, 48(9): 898-905.
- She Z Y, Xia S, Lu M, et al. Effect of acupotomy on mitophagy mediated by PINK1/Parkin pathway in cartilage of rabbits with knee osteoarthritis (in Chinese)[J]. *Acupuncture Research*, 2023, 48(9): 898-905.
- [9] Copp M E, Flanders M C, Gagliardi R, et al. The combination of mitogenic stimulation and DNA damage induces chondrocyte senescence[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2021, 29(3): 402-412.
- [10] Li Z C, Dai A N, Yang M, et al. p38MAPK signaling pathway in osteoarthritis: pathological and therapeutic aspects[J]. *J Inflamm Res*, 2022, 15: 723-734.
- [11] Sharma A C, Srivastava R N, Srivastava S R, et al. Evaluation of the association between a single-nucleotide polymorphism of bone morphogenetic proteins 5 gene and risk of knee osteoarthritis[J]. *J Postgrad Med*, 2017, 63(3): 151-156.
- [12] Snelling S J, Hulley P A, Loughlin J. BMP5 activates multiple signaling pathways and promotes chondrogenic differentiation in the ATDC5 growth plate model[J]. *Growth Factors*, 2010, 28(4): 268-279.
- [13] Shao Y, Zhao C, Pan J Y, et al. BMP5 silencing inhibits chondrocyte senescence and apoptosis as well as osteoarthritis progression in mice[J]. *Aging*, 2021, 13(7): 9646-9664.
- [14] 刘晶, 林巧璇, 卢莉铭, 等. 改良Videman法复制兔膝关节关节炎的实验研究[J]. *康复学报*, 2020, 30(3): 212-219.
- Liu J, Lin Q X, Lu L M, et al. Experimental study of modified videman method to replicate knee osteoarthritis in rabbits (in Chinese)[J]. *Journal of Fujian University of Traditional Chinese Medicine*, 2020, 30(3): 212-219.
- [15] 贺禹翔, 刘晗, 陈虹伶, 等. 基于筋骨平衡理论探讨张力平衡针法治疗骨性关节炎[J]. *中医临床研究*, 2025, 17(13): 56-61.
- HE Y X, LIU H, CHEN H L, et al. The treatment of knee osteoarthritis by tension balance acupuncture based on the theory of muscle and bone balance (in Chinese)[J]. *Clinical Journal of Chinese Medicine*, 2025, 17(13): 56-61.
- [16] 崔中赏, 刘爱峰, 李远栋, 等. 《黄帝内经》论治膝关节骨性关节炎的应用研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2021, 48(8): 77-80.
- Cui Z S, Liu A F, Li Y D, et al. Research on huangdi neijing's thought of treating knee osteoarthritis and its application (in Chinese)[J]. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2021, 48(8): 77-80.
- [17] 李凯, 安康, 张哲, 等. 从筋论治针刀“调衡”治疗膝关节炎思路探析[J]. *湖北中医药大学学报*, 2024, 26(6): 57-60.
- Li K, An K, Zhang Z, et al. An investigation of “adjusting balance” in treatment of knee osteoarthritis by acupotomy following the meridian tendons (in Chinese)[J]. *Journal of Hubei University of Chinese Medicine*, 2024, 26(6): 57-60.
- [18] 尹晶, 居诗如, 骆小娟, 等. 超声引导下温针刀治疗晚期膝关节骨关节炎的远期临床效应研究[J]. *针刺研究*, 2025, 50(4): 433-438, 466.
- Yin J, Ju S R, Luo X J, et al. The long-term follow-up clinical research of ultrasound-guided warm needle knife in treatment of advanced knee osteoarthritis (in Chinese)[J]. *Acupuncture Research*, 2025, 50(4): 433-438, 466.
- [19] 张雨晴, 侯逸敏, 夏敏, 等. 针刀松解合阳内调控膝周肌力改善KOA患者膝关节功能的研究[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2024, 26(12): 3180-3186.
- Zhang Y Q, Hou Y M, Xia M, et al. Study on the improvement of knee joint function in KOA patients by the regulation of periknee muscle strength by acupotomy loosening heyangnei (in Chinese)[J]. *Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica-World Science and Technology*, 2024, 26(12): 3180-3186.
- [20] 张智敏, 王海东, 李浩林, 等. 基于OPG/RANKL/NF- κ B信号通路探讨针刀疏筋解结抑制胶原诱导性关节炎大鼠骨破坏的作用机制[J]. *针刺研究*, 2026, 51(1): 68-76.
- Zhang Z M, Wang H D, Li H L, et al. Study on the underlying mechanism of acupotomy in inhibiting bone destruction in collagen-induced arthritis rats based on OPG/RANKL/NF- κ B signaling pathway (in Chinese)[J]. *Acupuncture Research*, 2026, 51(1): 68-76.
- [21] 李浩林, 陈平, 王海东, 等. 基于PI3K/AKT/NFATc1通路探讨针刀疏筋解结抑制类风湿性关节炎大鼠骨破坏的作用及机制[J]. *针刺研究*, 2025, 50(2): 131-140.
- Li H L, Chen P, Wang H D, et al. Effect and mechanism of acupotomy tendon-sparing and knot-dissolving technique in inhibiting bone destruction in rats with rheumatoid arthritis based on the PI3K/AKT/NFATc1 pathway (in Chinese)[J]. *Acupuncture Research*, 2025, 50(2): 131-140.
- [22] Jie L S, Zhang C F, Liu Y J, et al. Mechanistic study of the

- regulation of mitochondrial function by the GPNMB/Nrf2/NF- κ B signaling pathway mediated by Quzhi Tang to alleviate chondrocyte senescence [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 340: 119165.
- [23] 周巧, 刘健, 朱艳, 等. 黄芩清热除痹胶囊调控p53/p21信号通路延缓骨关节炎大鼠软骨细胞衰老的机制研究[J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(12): 3330-3339.
- Zhou Q, Liu J, Zhu Y, et al. Mechanism of Huangqin Qingre Chubi Capsules regulating p53/p21 signaling pathway to delay chondrocyte senescence in osteoarthritic rats (in Chinese)[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2024, 49(12): 3330-3339.
- [24] Abramson S B. The role of COX-2 produced by cartilage in arthritis[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 1999, 7(4): 380-381.
- [25] Hu Q C, Ecker M. Overview of MMP-13 as a promising target for the treatment of osteoarthritis [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 1742.
- [26] 潘俊康, 张义, 陈焱琳, 等. 针刀对膝关节骨关节炎兔软骨细胞早衰标志物p16Ink4a和p21Waf1/Cip1表达的影响[J]. *针刺研究*, 2023, 48(7): 658-665.
- Pan J K, Zhang Y, Chen X L, et al. Effect of acupotomy on expressions of cellular senescence markers p16^{Ink4a} and p21^{Waf1/Cip1} in cartilage tissue of rabbits with knee osteoarthritis (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2023, 48(7): 658-665.
- [27] Bijsterbosch J, Kloppenburg M, Reijnders M, et al. Association study of candidate genes for the progression of hand osteoarthritis[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(4): 565-569.
- [28] Sharma A C, Srivastava R N, Srivastava S R, et al. Association between single nucleotide polymorphisms of *SMAD3* and *BMP5* with the risk of knee osteoarthritis [J]. *J Clin Diagn Res*, 2017, 11(6): GC01-GC04.
- [29] King J A, Marker P C, Seung K J, et al. BMP5 and the molecular, skeletal, and soft-tissue alterations in short ear mice[J]. *Dev Biol*, 1994, 166(1): 112-122.
- [30] 刘兴漠, 项禹诚, 孙青, 等. 周期性张应力对骨性关节炎软骨细胞p38 MAPK表达及其磷酸化的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2012, 28(2): 362-365, 370.
- Liu X M, Xiang Y C, Sun Q, et al. Effects of cyclic tensile strain on expression of p38 MAPK and phospho-p38 MAPK in osteoarthritis chondrocytes (in Chinese) [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2012, 28(2): 362-365, 370.
- [31] 邵欣欣, 李鑫茹, 潘丽婕, 等. 基于Piezo1/p38MAPK/ERK5力敏感通路探讨针刀干预膝关节骨关节炎兔膝关节软骨退化的作用机制[J]. *中国针灸*, 2026, 46(1): 75-84.
- Shao X X, Li X R, Pan L J, et al. Mechanism of acupotomy on cartilage degeneration in rabbits with knee osteoarthritis based on Piezo1/p38MAPK/ERK5 mechanosensitive pathway (in Chinese) [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2026, 46(1): 75-84.

收稿日期:2025-11-28 修回日期:2026-03-09