

文章编号: 1005-0957 (2023) 05-0550-09

• 综 述 •

# 电针治疗膝骨关节炎的信号通路研究进展

庄智迪, 吴明霞

(福建中医药大学附属第二人民医院, 福州 350003)

**【摘要】 目的** 总结电针治疗膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)的相关信号通路研究进展。**方法** 收集中国知网、维普、万方、Pubmed 等数据库近 10 年电针治疗 KOA 的研究并进行归纳整合。**结果** 电针可调控不同信号通路发挥抗炎、镇痛、抑制软骨细胞凋亡、延缓关节软骨退变的多重作用。**结论** 电针治疗 KOA 具有双向性、多通路及多靶点的特性,但仍需进一步完善。

**【关键词】** 针刺疗法;电针;骨关节炎,膝;信号通路;综述

**【中图分类号】** R246.2 **【文献标志码】** A

DOI:10.13460/j.issn.1005-0957.2022.13.0049

膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)发病率、致残率高,严重地危害着中老年人的生命健康。关节软骨退行性改变是 KOA 的主要病理表现<sup>[1-2]</sup>,在年龄、体质、外伤等不同因素作用下,关节腔内炎症因子大量释放诱发关节软骨细胞凋亡和关节软骨基质降解。减轻疼痛和延缓退变是目前主要的治疗手段<sup>[3-4]</sup>,现代医学主要通过口服药物、关节腔给药、功能训练以及手术治疗 KOA<sup>[5]</sup>,但疗效并不尽如人意<sup>[6]</sup>,高昂的手术费用也使部分患者望而却步。

电针是中医学重要的外治手段,其疗效确切、价格亲民,是保守治疗 KOA 的优选方式<sup>[7]</sup>。研究发现,电针具有延缓关节软骨退变和抑制炎症反应等作用,但具体机制尚不清楚。探明相关信号通路有望进一步提高电针疗效充实理论依据。因此,本研究收集中国知网、维普、万方、Pubmed 等数据库近 10 年电针治疗 KOA 信号通路的相关文献,现综述如下。

## 1 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPK)信号通路概述

MAPK 可调控细胞增殖、分化、凋亡<sup>[8]</sup>。目前研究已知,MAPK 的磷酸化过程可分为 3 层,即“MAPKKK(MAP3K)-MAPKK(MAP2K)-MAPK”。在 3 个层级中,第一层 MAP3K 组成成分较为复杂,在下游不同分支间的功能与作用也存在重叠;第二层的 MAP2K 则由不同类型的

MEK 蛋白所构成<sup>[3]</sup>;第三层的 MAPK 激酶分别为细胞外信号调节激酶群(extracellular signal-regulated kinases, ERKs)、c-Jun 氨基端激酶(c-jun N-terminal, JUN)和 p38 激酶<sup>[8]</sup>。

在上游细胞膜外的受体接受刺激后,细胞膜内的 MAPK 激酶发生了“MAP3K-MAP2K-MAPK”逐层磷酸化,联级磷酸化完成后,不同分支可激活该通路的下游因子发挥对细胞的调控作用。根据 MAPK 激酶的组成与功能,MAPK 信号通路可分为 4 个主要子通路<sup>[9]</sup>,包括 p38 通路、ERK1/2 通路、JNK 通路、ERK5 通路,具有调控细胞增殖、分化、凋亡的作用,部分通路如 p38 还具有调控炎症反应调节细胞生命周期的作用。研究发现,电针对上述通路或相关蛋白均具有调控作用,具体如下。

### 1.1 细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)通路

ERK 可以进行细胞膜内外的信号传递,对细胞增殖、分化起到调控作用<sup>[10]</sup>。ERK 的激活伴随着相关蛋白层层递进的磷酸化,处于通路上游的 GTP 结合蛋白 Ras 被激活后可诱导 Raf 激酶、MEK 激酶、ERK 蛋白依次活化(即 Ras/Raf/MEK/ERK 通路),ERK 活化后进入细胞核结合相关底物蛋白以发挥调控作用<sup>[11]</sup>。

研究发现,ERK 的异常激活可促使软骨细胞异常增殖与过度分化,最后造成关节软骨的退变<sup>[12]</sup>。付长龙

**作者简介:**庄智迪(1996—),男,2020 级硕士生,Email:675587030@qq.com

**通信作者:**吴明霞(1965—),女,主任医师,博士生导师,Email:wumingxiafz@163.com

等<sup>[13]</sup>采用木瓜蛋白酶诱导 KOA SD 大鼠模型,电针犊鼻、内膝眼,频率为 2 Hz,强度为 2 mA,分组干预 15 min 和 30 min,每周干预 5 d,12 周后分离大鼠关节软骨,测得 Ras、Raf、ERK1/2 的 mRNA 表达显著降低,同时观察到电针干预后大鼠关节软骨退变程度显著小于对照组,提示电针可抑制 Ras、Raf、ERK 的表达还延缓了关节软骨退变。该研究还发现,15 min 组和 30 min 组间的差别并不明显。

值得一提的是,DA Z H 等<sup>[14]</sup>以 2 Hz 电针刺激类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)模型大鼠足三里、三阴交时发现,电针虽抑制了大鼠外周血中的 ERK1/2 含量,但在大鼠踝关节中却检查到 ERK1/2 水平增加,提示电针对该通路的调节或存在双向性。电针对于 KOA 关节腔和外周 ERK1/2 的调控是否也存在这种规律值得进一步探究,完善该研究有利于补充丰富电针双向调控的理论依据。

## 1.2 p38 MAPK 信号通路

p38 MAPK 通路参与细胞周期、炎症反应的调控相关,其核心成分 p38 MAPK 蛋白<sup>[15]</sup>。在炎症因子、应激或细胞凋亡信号的刺激下,p38 MAPK 的上游激活物 MKK 发生磷酸化,推动核心成分 p38 MAPK 蛋白活化并进入细胞核。入核后,p38 MAPK 蛋白参与调控细胞的生命周期及应激反应<sup>[16]</sup>。此外,NF- $\kappa$ B 作为 p38 的下游通路具有调控炎症因子释放的作用,因此 p38 的活化往往伴随着下游炎症因子水平的骤升,进一步加重关节腔的炎症<sup>[17]</sup>。

吴明霞等<sup>[18]</sup>采用电针干预 KOA 模型大鼠,取内膝眼、犊鼻,进针 10 mm,连接电针的频率为 8 Hz,电压为 8 V,分组分别干预 5 min、15 min、30 min,连续干预 10 d 并间隔 5 d 为 1 个疗程,35 d 后取软骨细胞进行分析,结果发现电针对大鼠软骨细胞 p38 通路中的 p38 mRNA 存在抑制作用,同时测得实验前后炎症因子肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )的水平显著降低;此外,电针 5 min 组的疗效与空白组无异,15 min 组和 30 min 组均有疗效且结果相近,提示电针通过抑制 p38 MAPK 以减少炎症因子的释放,但电针刺激时长过短则会影响疗效。

唐可婧等<sup>[19]</sup>观察电针对胶原诱导性关节炎大鼠的影响,电针足三里、三阴交,采用疏密波,频率为 2/100 Hz,结果发现电针可上调细胞外腺苷的水平,激活 A2A 受体,从而竞争性地抑制 p38 通路的激活。虽然

该实验基于类风湿关节炎进行,但 KOA 中电针是否也存在类似调控作用仍值得进一步探究,以便发现二者的共性。

另有研究发现,电针还通过 p38 通路发挥中枢镇痛作用。樊静杰等<sup>[20]</sup>以氨基酸碘乙酸诱导的 KOA 慢性疼痛模型大鼠,电针选用 2/100 Hz、疏密波刺激阳陵泉、犊鼻,每日刺激 15 min,连续干预 10 d 后,在大鼠脊髓背角观察到 p38、p-ERK 的蛋白表达受到抑制,且周围炎症因子的含量减少,提示电针延缓了脊髓中枢敏化所致的疼痛传递。杨昆吾等<sup>[21]</sup>基于前者的研究还发现,电针不仅可抑制相关通路,还可减少周围疼痛物质的产生以发挥中枢镇痛作用,表明电针在脊髓层面对 p38 和疼痛物质存在调控作用。李杨乐等<sup>[22]</sup>采用相同的干预手段,结果发现电针在脊髓阶段可提高大麻素受体(cannabinoid receptor 2, CB2R)含量,通过 CB2R 同时抑制 p38 通路和 ERK 通路。

简言之,电针通过 p38 通路在局部发挥抗炎作用,在中枢发挥镇痛作用。

## 1.3 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)信号通路

JNK 具有调控细胞生命周期的作用,其核心成分为 c-jun<sup>[23]</sup>。在辐射、炎症因子等因素的刺激下,上游 MAPK 激酶逐层磷酸化并激活 c-jun 蛋白,激活后的 c-jun 可诱导线粒体自噬引发细胞凋亡<sup>[24-25]</sup>。

LIAO Y 等<sup>[26]</sup>采用手术造模,使用电针干预 KOA 模型大鼠,选取足三里、阴陵泉、阳陵泉、三阴交进行针刺,电针频率为 3 Hz,强度为 2 mA,每日 30 min,每周 5 次,12 周后分离关节软骨细胞并检测,发现 JNK 通路中 JNK、c-jun 蛋白的 mRNA 表达减少,提示电针可抑制 JNK 通路。林洁等<sup>[27]</sup>采用电针刺激 SD 大鼠内膝眼、犊鼻,连续干预 1 周后获取大鼠血清,将血清与 TNF- $\alpha$ 诱导的 KOA 模型大鼠软骨细胞混合培育,测定相关指标后发现电针干预不仅可抑制 JNK 通路相关蛋白的表达,还观测到电针后软骨细胞的凋亡率低于对照组,提示电针可能通过抑制 JNK 信号通路减少软骨细胞凋亡。

## 2 核因子- $\kappa$ B(nuclear factor-kappa B, NF- $\kappa$ B)信号通路

NF- $\kappa$ B 与炎症反应关系密切,该通路在调控人体固有免疫中炎症反应中起重要作用。当 NF- $\kappa$ B 的上游 Toll 样受体激活后,NF- $\kappa$ B 通路的底物 $\kappa$ B 抑制因子激

酶(inhibitor of kappa B kinase, IKK)结合相关激酶 IKKs 发生磷酸化,进而激活相关蛋白表达<sup>[28-29]</sup>。NF- $\kappa$ B 激活后不仅可诱导炎症因子的大量释放,还可通过炎症因子对关节软骨基质造成破坏,加重关节软骨的退变<sup>[30]</sup>。

近年来研究报道,NF- $\kappa$ B 与 KOA 中滑膜炎的发生有直接联系,抑制该通路可有效减少关节腔的炎症因子<sup>[31]</sup>,阮安民等<sup>[32]</sup>运用 Hulth 法建立 KOA 模型新西兰白兔,电针以疏密波干预犊鼻、内膝眼、血海和梁丘,隔日治疗 20 min,每周 3 次,2 周后发现电针可显著抑制 NF- $\kappa$ B 的激活,在干预后的 KOA 模型兔的滑膜组织中,NF- $\kappa$ B 通路的相关因子 TRL、MyD88 的蛋白表达量显著降低,同时观察到关节液中炎症因子 TNF- $\alpha$ 含量显著减少,提示电针可能通过抑制 NF- $\kappa$ B 减少了炎症因子的释放。殷岳杉等<sup>[33]</sup>基于上述研究进一步发现,在造模 2 周和 4 周后,模型白兔关节腔中 NF- $\kappa$ B 通路的相关因子 TRL、MyD88 呈持续升高的状态,而电针可在不同阶段对 NF- $\kappa$ B 起到显著的抑制作用,提示临床上针对炎症的不同时期,电针介入均有一定的治疗意义。

进一步,WU G W 等<sup>[34]</sup>同样采用电针干预 KOA 模型新西兰白兔,波形为疏密波,频率为 2/100 Hz,每日治疗 30 min,连续干预 8 周后测定相关指标,发现电针可以阻止 NF- $\kappa$ B 的激活底物 IKK 活化,从而降低关节软骨基质的破坏成分——金属蛋白酶-13(matrix metalloproteinase-13, MMP-13)的含量,另外还观察到电针干预后关节软骨的完整性高于对照组,提示电针延缓软骨基质降解的作用可能是通过抑制 NF- $\kappa$ B 激活、减少 MMP-13 含量而实现的。

### 3 Wnt- $\beta$ -Catenin 信号通路

Wnt- $\beta$ -Catenin 信号通路是 Wnt 信号通路的重要分支。Wnt- $\beta$ -Catenin 具有调控细胞分化的作用,当上游 Wnt 蛋白与受体接触后可活化 $\beta$ -Catenin 蛋白, $\beta$ -Catenin 蛋白进入细胞核后结合对应的 RNA 进而调控细胞分化<sup>[35]</sup>。有学者<sup>[36-37]</sup>在 KOA 的通路研究中发现,Wnt- $\beta$ -Catenin 的激活可导致关节软骨细胞的异常分化,还伴有炎症因子水平的升高,这与 Wnt- $\beta$ -Catenin 和 NF- $\kappa$ B 间的交互作用有关,也表明 Wnt- $\beta$ -Catenin 是 KOA 治疗的靶通路之一。

张媛媛等<sup>[38]</sup>取大鼠内膝眼、犊鼻,电针选用疏密波、2/100 Hz,进针深度为 3~5 mm,强度为 1~2 mA,

每周干预 5 次,连续刺激 12 周。结果发现,KOA 模型大鼠关节软骨细胞中 Wnt- $\beta$ -Catenin 信号通路的 Wnt-4、 $\beta$ -catenin 蛋白表达显著受到抑制,与对照组比较,电针干预后大鼠关节软骨完整性和软骨细胞的数量也有显著提高,提示电针可通过抑制上游 Wnt 蛋白的分泌而抑制 Wnt- $\beta$ -Catenin 信号通路,以达到延缓关节软骨退变的作用。彭旭玲等<sup>[39]</sup>收集 KOA 患者,针刺鹤顶、血海、犊鼻等穴,并选取 2 个关节周围的穴位进行电针配合玻璃酸钠治疗,对照组单纯使用玻璃酸钠治疗。结果发现,联合治疗组患者疼痛症状显著缓解,且关节液中 Wnt-3 $\alpha$ 、 $\beta$ -Catenin 的蛋白含量与白介素水平与对照组比较显著降低,表明电针具有对 Wnt- $\beta$ -Catenin 通路的抑制作用。

### 4 磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKT) 信号通路

PI3K/AKT 具有传导其他通路细胞增殖、分化、凋亡、血管形成信息的作用<sup>[40]</sup>。PI3K/AKT 可收集多条信号通路的激活信息(包括 Toll 样受体、JAK-STAT 等)传导至中游的核心成分(PI3K 和 AKT 蛋白),核心成分整合处理上游的信息后,分类传递至不同通路[如哺乳动物雷帕霉素靶蛋白、NF- $\kappa$ B 等]进而调控下游效应因子释放<sup>[41-42]</sup>。

有研究<sup>[43]</sup>发现,PI3K/AKT 可调节促凋亡蛋白 Bax 和抗凋亡蛋白 Bcl-2 的平衡以控制细胞凋亡的进程,降低 Bax/Bcl-2 比值有利于延缓细胞的凋亡。张媛媛等<sup>[44]</sup>采用电针干预模型大鼠内膝眼、犊鼻,电针参数为 2/100 Hz、疏密波,分组干预 15 min 和 30 min,每周 5 次,干预 12 周后测定大鼠关节软骨 PI3K/AKT、Bax 的表达,发现电针后软骨细胞中 PI3K、AKT 的蛋白表达显著提高,Bax/Bcl-2 比值降低,且电针干预后关节软骨的结构以及完整性优于对照组,表明电针可激活 PI3K/AKT 通路,降低 Bax/Bcl-2 比值,延缓关节软骨退变。

### 5 骨保护素/核因子 $\kappa$ B 受体活化因子/核因子 $\kappa$ B 受体活化因子配体 (osteoprotegerin/receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B/receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand, OPG/RANK/RANKL) 信号通路

OPG/RANK/RANKL 信号通路具有调控骨量和骨骼

代谢的作用<sup>[37]</sup>, OPG 由成骨细胞分泌, 而 RANK 和 RANKL 分别是破骨细胞的配体和受体。学者发现, OPG 可竞争性结合 RANKL 抑制骨吸收作用, 提高 OPG 的含量可有效预防骨质疏松与关节软骨退变<sup>[45-46]</sup>。

孙光华等<sup>[47]</sup>利用去卵巢方式制作大鼠模型, 模拟雌激素下降所致的骨质疏松与 KOA 软骨退变。电针大鼠三阴交、阳陵泉, 电针参数选用 3/15 Hz, 疏密波, 每周 5 次, 每次 30 min, 12 周后取样观察。结果发现, 电针干预可提高大鼠关节软骨中 OPG 的 mRNA 表达, 而 RANKL、MMP-13 的 mRNA 表达明显降低, 再观测大鼠尿液中骨吸收标志物和关节软骨退变情况则发现, 电针组骨吸收程度和关节软骨退变均小于对照组, 证明电针可提高 OPG 含量, 调控 OPG/RANK/RANKL 信号通路, 延缓骨质疏松和关节软骨退变。

## 6 非受体酪氨酸激酶-信号转导子和转录激活子 (janus kinase-signal transducer and activator of transcription, JAK-STAT) 通路

JAK-STAT 信号通路可调控炎症反应和细胞生命活动。JAK 激活后发生磷酸化并结合 STAT, STAT 活化后进入细胞核发挥调控作用<sup>[48-49]</sup>。转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 通路则与细胞的分化、凋亡相关, 其关键因子为 Smad 蛋白<sup>[50]</sup>, 该蛋白也是 JAK-STAT 信号通路的重要转导子<sup>[51]</sup>。研究发现, TGF- $\beta$  可抑制软骨细胞肥大性分化, 从而延缓关节软骨退变<sup>[52]</sup>。吴明霞等<sup>[53]</sup>使用木瓜蛋白酶诱导 KOA 大鼠模型, 电针内膝眼、犊鼻, 频率为 8 Hz, 发现电针可激活大鼠 JAK-STAT 通路的上游受体——瘦蛋白, 从而提高大鼠关节软骨细胞中 STAT3 的表达。此外, 研究者还观察到, 在 JAK-STAT 通路激活的同时, 还伴随着和 TGF- $\beta$  与白细胞抑制因子 3 含量的升高。提示电针可能通过同时激活 JAK-STAT、TGF- $\beta$  通路从而实现延缓关节软骨退变的作用。

TGF 通路也是 MAPK 众多子通路的活化因子之一, 其异常激活也可诱导细胞的过度分化和凋亡, 因此 TGF 通路在 KOA 中的作用并不能一概而论。黄冬娥等<sup>[54]</sup>与黄滢等<sup>[55]</sup>通过实验发现电针可提高 KOA 模型大鼠关节腔中 TGF- $\beta$ 1 的含量, 但黄滢等<sup>[55]</sup>的实验还发现电针后大鼠外周血液中的 TGF- $\beta$ 1 的分泌则受到抑制, 提示电针对于 TGF 通路的调控也并非是单纯的促进和抑制, 有很大的可能是存在双向良性调节作用。

## 7 信号通路间的作用机制途径

KOA 的主要病理表现滑膜炎和关节软骨退变。炎症的产生与 MAPK、NF- $\kappa$ B、Wnt 等信号通路相关, 其中 MAPK 的子通路 p38 被认为在 KOA 的发病中占据重要地位<sup>[56]</sup>, p38 不仅可诱发炎症因子的释放, 还能活化 NF- $\kappa$ B 通路, NF- $\kappa$ B 借助自身的级联放大效应可进一步加剧炎症。不仅如此, MAPK 的 JNK 通路以及 NF- $\kappa$ B 的核因子可活化 Wnt 通路进而导致软骨机制发生 MMP 降解, 以上便是通路导致炎症的产生和软骨破坏的主要机制。

随着炎症因子的释放和软骨基质降解, 软骨细胞的生存环境受到严重破坏。软骨细胞的内、外凋亡途径也相应启动。首先, 炎症因子可刺激 PI3K/AKT、JAK-STAT 等通路, 导致下游 Bcl 释放并启动细胞内部的线粒体凋亡途径; 与此同时, 细胞外部的大量的炎症因子 (如 TNF) 可活化细胞的死亡受体, 激活细胞内的凋亡蛋白酶, 启动软骨细胞的外源性凋亡途径<sup>[57]</sup>; 最后, 在炎症、细胞凋亡、关节软骨退变等通路的共同作用下, 关节软骨消失殆尽, 骨量调节相关通路随之诱导骨赘的形成, 关节失去了软骨的缓冲作用导致患者出现剧烈的疼痛、活动受限。

## 8 针效影响因素在电针治疗 KOA 通路中的研究进展及分析

### 8.1 电针参数选择

由表 1 可见, 在波形的选择上, 8 项研究选择了疏密波。在电针频率方面, 疏密波的频率多采用 2/100 Hz, 其他研究则没有说明电针波形的选择, 频率的选择多在 2~8 Hz。而在电针强度的选择上则多在 1~2 mA 的电流强度, 部分研究则将强度以电压的形式体现。

由于实验对象和目的不尽相同, 故在短时间内对电针参数进行统一是不现实的, 但通过他人的研究可以推测, 疏密波结合高低频率电流是未来电针治疗 KOA 的主流方案。原因如下, 首先, 近年来研究表明, 单一频率的电针治疗会使受试者逐渐产生耐受作用<sup>[58]</sup>, 而疏密波则通过不同频率电流的变化改善了这一问题。其次, 研究已证实, 低频率 (2 Hz) 电流有利于内啡肽和内啡肽的释放, 适用于短效镇痛, 而高频率 (50 Hz 或 100 Hz) 电流则可发挥对慢性疼痛的抑制作用<sup>[59]</sup>, 而疏密波通过合理的调试可同时、充分地发挥电针短效与长效镇痛的优势。此外, 有研究者在 KOA 患者

的电针治疗中发现,疏密波不仅表现出更强的镇痛作用,并且在所有波形中更能够促进关节腔中转化生长因子的释放,加快关节软骨细胞的增殖和分化<sup>[54]</sup>。故疏密波结合高低频的电针治疗可兼顾延缓关节软骨退变和镇痛的作用,或将在未来成为主流方案。

然而,关于电针的强度目前则难以通过现有研究进行预测。虽然不同强度的电针均有可观的镇痛作用,

但是在镇痛后效应方面,强电针和弱电针存在一定差别<sup>[60]</sup>,而这种差别是否受其他参数(波形、频率、时程)的影响还不清楚。其次,多数实验是从镇痛角度入手对电针的强度进行研究,而 KOA 虽然以疼痛为主要表现,但实质为关节软骨退变,故不同强度的选择对关节软骨退变的影响仍是未知数。找到不同参数间的平衡、最大化电针疗效对于 KOA 的治疗有重要临床意义。

表 1 针灸治疗 KOA 实验对象及电针参数

| 研究者                         | 实验对象及数目                        | 波形  | 频率       | 强度         |
|-----------------------------|--------------------------------|-----|----------|------------|
| 付长龙 2017 <sup>[13]</sup>    | 2 月龄 SD 雄性大鼠 120 只             |     | 2 Hz     | 2 mA       |
| 吴明霞 2011 <sup>[18]</sup>    | 2 月龄 SD 大鼠 60 只                |     | 8 Hz     | 10 V       |
| 樊静杰 2021 <sup>[20]</sup>    | SPF 级健康雌性 SD 大鼠 32 只           | 疏密波 | 2/100 Hz | <2 mA      |
| 李杨乐 2022 <sup>[22]</sup>    | 6 周龄 SPF 级雌性 SD 大鼠 48 只        | 疏密波 | 2/100 Hz | 1~2 mA     |
| LIAO Y 2016 <sup>[26]</sup> | 36 月龄 SD 大鼠 30 只               |     | 3 Hz     | 1 mA       |
| 林洁 2018 <sup>[27]</sup>     | 4 周龄 SD 雄性大鼠,另体外培育 SD 大鼠关节软骨细胞 |     |          |            |
| 阮安民 2021 <sup>[32]</sup>    | 6 月龄新西兰大白兔 24 只(雌雄各半)          | 疏密波 |          | 1~2 mA     |
| 殷岳杉 2021 <sup>[33]</sup>    | 6 月龄新西兰大白兔 44 只(雌雄各半)          | 疏密波 |          | 1~2 mA     |
| WU G W 2019 <sup>[34]</sup> | 6 月龄雄性新西兰大白兔 24 只              | 疏密波 | 2/100 Hz |            |
| 张媛媛 2019 <sup>[38]</sup>    | 2 月龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 50 只        | 疏密波 | 2/100 Hz | 0.5~1.5 mA |
| 彭旭玲 2019 <sup>[39]</sup>    | KOA 患者 82 例                    | 疏密波 | 3~30 Hz  |            |
| 张媛媛 2019 <sup>[44]</sup>    | 2 月龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 50 只        | 疏密波 | 2/100 Hz |            |
| 孙光华 2018 <sup>[47]</sup>    | 雌性 3 月龄 SD 大鼠 24 只             | 疏密波 | 3/15 Hz  | 1 mA       |
| 吴明霞 2011 <sup>[53]</sup>    | 2 月龄 SD 大鼠 60 只(雌雄各半)          |     | 8 Hz     |            |

## 8.2 主穴和配穴选择

由表 2 可见,上述研究的穴位选择有以下规律。主穴常以内膝眼、犊鼻为先。KOA 在中医学中亦称为“骨痹”“痹证”,临床以疼痛为主要表现。因此,内膝眼、犊鼻最符合“以痛为腧”的取穴策略;从解剖学角度看,此二穴是针体进入关节腔发挥周围效应的最佳穴位。

表 2 电针选穴规律

| 穴位  | 出现频次 | 归经   |
|-----|------|------|
| 内膝眼 | 12   | 经外奇穴 |
| 犊鼻  | 10   | 足阳明  |
| 阳陵泉 | 6    | 足少阳  |
| 足三里 | 3    | 足阳明  |
| 阴陵泉 | 3    | 足太阴  |
| 三阴交 | 2    | 足太阴  |
| 血海  | 3    | 足太阴  |
| 梁丘  | 3    | 足阳明  |
| 箕门  | 1    | 足太阴  |

配穴归经多取足阳明、足少阳、足太阴经穴。从气血运行的角度看,足阳明多气多血,足少阳多气少血,足太阴多血少气,三经通畅则下肢气血运行不息,痹痛自然可解;从经络所属脏腑的角度看,脾胃互为表里,选取二经配穴既有止痛通络之效,亦有健运脾胃,强壮下肢肌肉之功,可预防骨痹后期化为痿证。

## 8.3 刺激时程及治疗频次

由表 3 可见,多数研究的刺激时程为 15~30 min,治疗频率为每周 3~5 次或连续治疗若干天不等;实验周期缺乏一定规律,最少为 3 d,最多则达 12 周。

研究表明,电针对于不同疾病存在时效性,包括最佳诱导期、残效期和半衰期<sup>[61]</sup>。上述研究中的相关团队对针刺时程进行研究后发现,电针治疗 KOA 也存在着时效规律。吴明霞团队发现,电针干预 15 min 和 30 min 的疗效较为接近,而 5 min 的效果则与空白组无异,提示电针在治疗 KOA 的最佳诱导期可能在 5~15 min 时间段内,但 30 min 后疗效进入峰值还是步入半衰期仍有待考证。

表 3 电针的刺激时程及治疗频率

| 研究者                         | 干预时间                  | 治疗频率                             |
|-----------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| 付长龙 2017 <sup>[13]</sup>    | 15 min, 30 min        | 每周治疗 5 d, 休息 2 d, 总共治疗 12 周      |
| 吴明霞 2011 <sup>[18]</sup>    | 5 min, 15 min, 30 min | 15 d 为 1 个疗程, 疗程间休息 5 d, 共 2 个疗程 |
| 樊静杰 2021 <sup>[20]</sup>    | 15 min                | 5 次为 1 个疗程, 共 2 个疗程              |
| 李杨乐 2022 <sup>[22]</sup>    | 15 min                | 5 次为 1 个疗程, 共 2 个疗程              |
| LIAO Y 2016 <sup>[26]</sup> | 30 min                | 每周 5 次                           |
| 林洁 2018 <sup>[27]</sup>     | 15 min, 30 min        | 每日 1 次, 连续干预 1 周                 |
| 阮安民 2021 <sup>[32]</sup>    | 20 min                | 隔日治疗 1 次, 每周治疗 3 次               |
| 殷岳杉 2021 <sup>[33]</sup>    | 20 min                | 隔日治疗 1 次, 每周治疗 3 次               |
| WU G W 2019 <sup>[34]</sup> | 30 min                | 每日 1 次, 连续干预 8 周                 |
| 张媛媛 2019 <sup>[38]</sup>    | 15 min, 30 min        | 每日 1 次, 每周 5 次, 共 12 周           |
| 彭旭玲 2019 <sup>[39]</sup>    | 20 min                | 每周 1 次, 连续治疗 5 周                 |
| 张媛媛 2019 <sup>[44]</sup>    | 15 min, 30 min        | 每周 5 次, 连续干预 12 周                |
| 孙光华 2018 <sup>[47]</sup>    | 30 min                | 每周 5 次, 共 12 周                   |
| 吴明霞 2011 <sup>[53]</sup>    | 15 min, 30 min        | 5 d 为 1 个疗程, 疗程间休息 2 d, 共 5 个疗程  |

虽然上述实验的实验周期及治疗频次缺乏一定规律,但结合表 1 的实验对象可知,实验者有意根据实验动物的种类、周龄、造模方式制定干预周期和频次。但在笔者看来,KOA 既是老年病,也是慢性病,关节软骨的退变和疼痛的产生是长期过程,仅通过动物造模手段是难以完美复制的,而这也对实验的周期和实验的结局产生诸多影响。因此,期待未来的大样本、多中心和基于人体的统一研究能解决此问题。

9 讨论

从微观的角度看,KOA 的发生、发展是在各种复杂因素作用之下,不同信号通路的异常活动引起了关节腔中炎症因子激增和软骨细胞凋亡,故在宏观角度可观察到关节的肿胀、畸形以及疼痛。理论上,若完整了解相关通路的运行机制,针对性地使用靶向药物,似乎是治疗 KOA 的有效途径。然而,通路间的复杂作用让靶向药物难以获得满意疗效,原因在于通路间的联系和交互作用。笔者将从目前已知的研究中试析上述通路的相互联系。

首先,细胞分化和凋亡通路间存在着相互作用,TGF 通路是调控软骨细胞增殖、分化的重要通路,而且 TGF 通路的相关因子 Smad 还是 JAK-STAT 通路的重要转导子,TGF 的异常活化还可激活 JAK-STAT<sup>[51]</sup>,从而影响细胞的生命周期,这可以解释为何吴明霞在实验中观察到电针对上述两条通路均有激活作用。进一步研

究发现,TGF- $\beta$ 还可激活 MAPK 信号通路的相关受体,活化 MAPK 的多条子通路,诱发细胞凋亡,而其中的 p38 MAPK 通路可进一步激活其下游的炎性通路——NF- $\kappa$ B 信号通路<sup>[17]</sup>。至此,依靠通路间的协同作用,细胞凋亡通路与炎性通路逐渐交织。

作为调节固有免疫的经典通路,NF- $\kappa$ B 不仅可促进关节腔中炎症因子的释放,其核因子在近年来被发现与 Wnt 信号通路存在串话作用<sup>[51]</sup>。随着 NF- $\kappa$ B 的活化,学者观察到 Wnt 的相关蛋白与下游金属蛋白酶的含量均有增加,而 Wnt 的异常活化则为关节软骨的退变埋下伏笔。随着 Wnt 通路的激活、金属蛋白酶的释放,关节软骨基质遂发生降解,软骨细胞在炎症与基质缺失的情况下失去了生存环境,大量细胞凋亡与基质降解产生的废物在关节腔中堆积,进一步激活了固有免疫系统,引发下一轮炎症反应。至此,病情步入了“炎症-退变-炎症”的恶性循环中<sup>[62]</sup>,尚无有效方式逆转。

上述通路间的相互联系仅是笔者根据现有文献分析所得,仍难以系统、完整地解释 KOA 的发病机制。因为炎症和退变诱因还包含了患者的年龄、性别、激素水平等复杂因素,这也是目前临床防治 KOA 面对的难题。虽然目前尚不可逆转 KOA 的进程,但电针依靠其多通路、多靶点的作用,为 KOA 的治疗提供了新的思路。

从目前的研究可以得出结论,电针通过对通路的不同调控作用,同时发挥抗炎、镇痛和延缓关节软骨退变等作用,具有双向性、多通路、多靶点的特点。首先,

电针调控是双向性的。KOA 的发生伴随着信号通路的异常活化或抑制,而电针在不同的实验中表现出了对异常通路的不同作用,黄冬娥等<sup>[54]</sup>与黄滢等<sup>[55]</sup>研究也证明了电针对于关节腔内外 TGF 的含量存在不同作用,展现了电针对同一因子或同一通路的双向调控作用,提示电针并不是单纯的激活和抑制通路而是深层次的调节。其次,电针的作用是多通路、多靶点的。针对炎症通路、细胞凋亡通路以及骨吸收通路等,电针均有全面、广泛的调节作用,并非厚此薄彼。以 MAPK 通路及其子通路为例,电针对于 MAPK 的多条子通路存在调控作用,既抑制了炎症因子的产生,又减少了软骨细胞的凋亡,极有希望使 KOA 脱离“炎症-退变-炎症”的恶性循环,这种复杂、综合的调节作用在一定程度上也是对中医学“整体观念”的现代化解读。放眼未来,需要进一步明确电针在 KOA 的不同阶段以调控何种通路为先,有利于进一步优化电针在临床上的介入时机。

结合上文,回归临床,电针在治疗 KOA 方面具有起效快、价格低等优势。故完善相关参数、优化治疗策略可进一步提高临床疗效。正如前文所述,虽然疏密波和低频频率或在未来发挥广泛作用,但由于目前部分研究者对参数和疗效影响因素仍缺乏关注,故导致电针的治疗策略在临床上不统一、不规范。

从细胞学、分子学的角度观察,KOA 的发病机制所涉及的通路较多,而通路之间亦有相互联系和相互作用<sup>[63]</sup>,而目前的机制研究证明,电针治疗 KOA 具有双向性、多靶点、多通路的特性,具有抗炎、镇痛、抗退变的多重作用。但是目前仍然有许多问题尚待解决,KOA 的发病涉及多通路相互作用,而国内的研究多注重于单一通路,缺乏对于双通路甚至是多通路的同時研究。电针取穴、动物种类和造模方式是影响 KOA 机制研究的重要因素,但是国内研究对于电针的取穴尚未统一;此外,研究者之间对于实验动物的种类、造模手段也缺乏共同意见,亟需大样本的实验研究。目前国内研究的关注点在电针对通路的激活或抑制作用,缺乏对靶点的验证以及相关参数的量化、标准化研究。

综上,电针治疗 KOA 疗效确切,但电针的机制研究仍有很大的进步空间,全面、深入地完善电针治疗 KOA 的通路机制有助于提高临床疗效。

## 参考文献

- [1] CORYELL P R, DIEKMAN B O, LOESER R F. Mechanisms and therapeutic implications of cellular senescence in osteoarthritis[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2021, 17(1):47-57.
- [2] SHARMA L. Osteoarthritis of the knee[J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(1):51-59.
- [3] HUNTER D J, BIERMA-ZEINSTRAS S. Osteoarthritis[J]. *Lancet*, 2019, 393(10182):1745-1759.
- [4] MOBASHERI A, RAYMAN M P, GUALILLO O, et al. The role of metabolism in the pathogenesis of osteoarthritis[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2017, 13(5):302-311.
- [5] KATZ J N, ARANT K R, LOESER R F. Diagnosis and treatment of hip and knee osteoarthritis: a review[J]. *JAMA*, 2021, 325(6):568-578.
- [6] DA COSTA B R, PEREIRA T V, SAADAT P, et al. Effectiveness and safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs and opioid treatment for knee and hip osteoarthritis: network meta-analysis[J]. *BMJ*, 2021, 375:n2321.
- [7] 许骏,徐浩,梁倩倩,等.近5年针刺治疗膝骨关节炎的研究进展[J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(7):3557-3559.
- [8] RONKINA N, GAESTEL M. MAPK-activated protein kinases: servant or partner?[J]. *Annu Rev Biochem*, 2022, 91:505-540.
- [9] FANG J Y, RICHARDSON B C. The MAPK signalling pathways and colorectal cancer[J]. *Lancet Oncol*, 2005, 6(5):322-327.
- [10] MLAKAR V, MOREL E, MLAKAR S J, et al. A review of the biological and clinical implications of RAS-MAPK pathway alterations in neuroblastoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1):189.
- [11] ULLAH R, YIN Q, SNELL A H, et al. RAF-MEK-ERK pathway in cancer evolution and treatment[J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, S1044-579X(21)00138-3.
- [12] ZHU M, XU Q, YANG X, et al. Vindoline attenuates osteoarthritis progression through suppressing the NF-κB and ERK pathways in both chondrocytes and subchondral osteoclasts[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 12:764598.
- [13] 付长龙,陈后煌,朱定钰,等.电针延缓骨关节炎软骨退

- 变:基于 Ras-Raf-MEK1/2-ERK1/2 信号通路的认识[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(24):3790-3795.
- [14] DU Z H, ZHANG C W, XIE W X, *et al.* Adenosine A2A receptor mediates inhibition of synovitis and osteoclastogenesis after electroacupuncture in rats with collagen-induced arthritis[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019:4617464.
- [15] NIKOLIC I, LEIVA M, SABIO G. The role of stress kinases in metabolic disease[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2020, 16(12):697-716.
- [16] CANOVAS B, NEBRED A R. Diversity and versatility of p38 kinase signalling in health and disease[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(5):346-366.
- [17] HOESEL B, SCHMID J A. The complexity of NF- $\kappa$ B signaling in inflammation and cancer[J]. *Mol Cancer*, 2013, 12:86.
- [18] 吴明霞, 李西海, 李俐, 等. 电针后血清对 TNF- $\alpha$ 诱导凋亡软骨细胞 MAPK 信号通路的影响[J]. 福建中医药, 2011, 42(6):43-45.
- [19] 唐可婧, 郑琪琪, 宋芷葳, 等. 电针通过激活腺苷 A2A 受体抑制 p38 MAPK 通路减轻胶原诱导性关节炎大鼠的关节骨侵蚀[J]. 第二军医大学学报, 2021, 42(7):740-748.
- [20] 樊静杰, 袁普卫, 郑洁, 等. 基于脊髓大麻素受体 CB2 介导的 MAPK 信号通路探讨电针治疗膝骨性关节炎慢性痛的机制研究[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(13):1582-1586.
- [21] 杨昆吾, 袁普卫, 董博, 等. 电针对膝骨性关节炎大鼠痛行为及脊髓背角和背根神经节中疼痛相关因子含量的影响[J]. 针刺研究, 2020, 45(10):818-822.
- [22] 李杨乐, 杨锋, 樊静杰, 等. 电针对膝骨性关节炎大鼠脊髓背角 CB2R、p-P38 和 p-ERK 表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2022, 29(7):60-66.
- [23] WU Q, WU W, FU B, *et al.* JNK signaling in cancer cell survival[J]. *Med Res Rev*, 2019, 39(6):2082-2104.
- [24] XU R, HU J. The role of JNK in prostate cancer progression and therapeutic strategies[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121:109679.
- [25] VAN OPDENBOSCH N, LAMKANFI M. Caspases in cell death, inflammation, and disease[J]. *Immunity*, 2019, 50(6):1352-1364.
- [26] LIAO Y, LI X, LI N, *et al.* Electroacupuncture protects against articular cartilage erosion by inhibiting mitogen-activated protein kinases in a rat model of osteoarthritis[J]. *Acupunct Med*, 2016, 34(4):290-295.
- [27] 林洁, 吴广文, 付长龙, 等. 大鼠电针后血清对肿瘤坏死因子 $\alpha$ 诱导凋亡软骨细胞 Erk1/2、C-Myc、C-Fos 和 C-Jun 基因表达的影响[J]. 福建中医药, 2018, 49(2):20-23.
- [28] ANTONIA R J, HAGAN R S, BALDWIN A S. Expanding the view of IKK: new substrates and new biology[J]. *Trends Cell Biol*, 2021, 31(3):166-178.
- [29] SUEISHI T, AKASAKI Y, GOTO N, *et al.* GRK5 inhibition attenuates cartilage degradation via decreased NF- $\kappa$ B signaling[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2020, 72(4):620-631.
- [30] YU H, LIN L, ZHANG Z, *et al.* Targeting NF- $\kappa$ B pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1):209.
- [31] DIDONATO J A, MERCURIO F, KARIN M. NF- $\kappa$ B and the link between inflammation and cancer[J]. *Immunol Rev*, 2012, 246(1):379-400.
- [32] 阮安民, 王庆甫, 王玉峰, 等. 电针对膝骨关节炎兔 NF- $\kappa$ B 信号通路及滑膜炎症的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(28):3095-3099.
- [33] 殷岳杉, 阮安民, 刘梦玉, 等. 电针对膝骨关节炎模型兔滑膜组织信号通路的影响机制研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2021, 29(6):1-4, 8.
- [34] WU G W, CHEN J, HUANG Y M, *et al.* Electroacupuncture delays cartilage degeneration by modulating nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *Chin J Integr Med*, 2019, 25(9):677-683.
- [35] ZHANG Y, WANG X. Targeting the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in cancer[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1):165.
- [36] MCALINDON T E, BANNURU R R. Osteoarthritis in 2017: latest advances in the management of knee OA[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2018, 14(2):73-74.
- [37] INFANTE M, FABI A, COGNETTI F, *et al.* RANKL/RANK/OPG system beyond bone remodeling: involvement in breast cancer and clinical perspectives[J]. *J*

- Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1):12.
- [38] 张媛媛, 李西海, 吴明霞. 电针调节 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路抑制大鼠膝关节炎软骨退变的研究[J]. 中国针灸, 2019, 39(10):1081-1086.
- [39] 彭旭玲, 张永红, 陈勇, 等. 电针辅助治疗膝关节炎疗效及对血清 Wnt-3 $\alpha$ 、 $\beta$ -catenin 和关节滑液中白介素水平的影响[J]. 上海针灸杂志, 2019, 38(6):660-664.
- [40] ALZHRANI A S. PI3K/Akt/mTOR inhibitors in cancer: at the bench and bedside[J]. *Semin Cancer Biol*, 2019, 59:125-132.
- [41] HOXHAI G, MANNING B D. The PI3K-AKT network at the interface of oncogenic signalling and cancer metabolism[J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(2):74-88.
- [42] KONO M, FUJII T, LIM B, *et al.* Androgen receptor function and androgen receptor-targeted therapies in breast cancer: a review[J]. *JAMA Oncol*, 2017, 3(9):1266-1273.
- [43] WANG L, WANG L, SHI X, *et al.* Chlorpyrifos induces the apoptosis and necroptosis of L8824 cells through the ROS/PTEN/PI3K/AKT axis[J]. *J Hazard Mater*, 2020, 398:122905.
- [44] 张媛媛, 蒋昕钰, 李西海, 等. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨电针对膝关节炎模型大鼠软骨细胞凋亡的影响[J]. 康复学报, 2019, 29(4):30-36.
- [45] KOVÁCS B, VAJDA E, NAGY E E. Regulatory effects and interactions of the Wnt and OPG-RANKL-RANK signaling at the bone-cartilage interface in osteoarthritis[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18):4653.
- [46] CAFFERATA E A, MONASTERIO G, CASTILLO F, *et al.* Overexpression of MMPs, cytokines, and RANKL/ OPG in temporomandibular joint osteoarthritis and their association with joint pain, mouth opening, and bone degeneration: a preliminary report[J]. *Oral Dis*, 2021, 27(4):970-980.
- [47] 孙光华, 廖瑛, 廖源, 等. 电针对去卵巢大鼠关节软骨退变及软骨下骨骨质疏松的影响[J]. 针刺研究, 2018, 43(12):781-787.
- [48] HU X, LI J, FU M, *et al.* The JAK/STAT signaling pathway: from bench to clinic[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1):402.
- [49] VILLARINO A V, GADINA M, O'SHEA J J, *et al.* SnapShot: Jak-STAT signaling II[J]. *Cell*, 2020, 181(7):1696-1696. e1.
- [50] FRANGOIANNIS N. Transforming growth factor- $\beta$  in tissue fibrosis[J]. *J Exp Med*, 2020, 217(3):e20190103.
- [51] MA B, HOTTIGER M O. Crosstalk between Wnt/ $\beta$ -Catenin and NF- $\kappa$ B signaling pathway during inflammation[J]. *Front Immunol*, 2016, 7:378.
- [52] THIELEN N G M, VAN DER KRAAN P M, VAN CAAM A P M. TGF  $\beta$ /BMP signaling pathway in cartilage homeostasis[J]. *Cells*, 2019, 8(9):969.
- [53] 吴明霞, 李西海, 李俐, 等. 电针对骨性关节炎软骨细胞 JAK-STAT 信号通路表达的影响[J]. 福建中医药大学学报, 2011, 21(6):21-23.
- [54] 黄冬娥, 秦茵, 林木南, 等. 不同波型电针治疗膝关节炎及对关节液转化生长因子- $\beta$ 1 的影响[J]. 中国针灸, 2020, 40(4):370-374.
- [55] 黄滢, 何智军, 庄礼兴. 不同针灸方法对膝关节炎大鼠骨桥蛋白、基质金属蛋白酶-3 和转化生长因子- $\beta$ 1 表达的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2021, 16(10):1820-1825.
- [56] 王迷娜, 刘璐, 赵洛鹏, 等. 膝关节炎炎症因子及信号通路的研究进展[J]. 中国骨伤, 2020, 33(4):388-392.
- [57] 李敏, 林俊. 细胞凋亡途径及其机制[J]. 国际妇产科学杂志, 2014, 41(2):103-107.
- [58] 王连芳, 席强. 临床电针治疗膝关节炎参数选择现状及分析[J]. 中医药导报, 2019, 25(8):108-113.
- [59] 梁宜, 周杰, 孙晶, 等. 方剑乔教授电针镇痛临床运用心得[J]. 上海针灸杂志, 2016, 35(12):1387-1389.
- [60] 付宏伟, 阎丽娟, 刘阳阳, 等. 不同电针刺激参数对镇痛效应影响的研究概述[J]. 上海针灸杂志, 2018, 37(11):1331-1335.
- [61] 林璐璐, 王丽琼, 杨静雯, 等. 针刺时效关系研究进展[J]. 中国针灸, 2019, 39(5):565-570.
- [62] 谢锦伟, 黄泽宇, 裴福兴. 固有免疫系统在骨关节炎发病机制中的作用及研究进展[J]. 中国修复重建外科杂志, 2019, 33(3):370-376.
- [63] XIE Y, ZINKLE A, CHEN L, *et al.* Fibroblast growth factor signalling in osteoarthritis and cartilage repair[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2020, 16(10):547-564.