

激光针灸对 CIA 大鼠血清 IL-1 β 、IL-15、IL-17、TNF- α 、VEGF 和 COR 的影响

张海波 李迎新 胡甜甜 陈洪丽 吕恒勇 杨基春 穆志明 吴金鹏*

(中国医学科学院北京协和医学院生物医学工程研究所, 天津 300192)

摘要 研究激光针灸在不同的作用方式和参数设置下,对 II 型胶原蛋白诱导的关节炎(CIA)模型大鼠血清白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 15(IL-15)、白细胞介素 17(IL-17)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、血管内皮细胞生长因子(VEGF)和皮质醇(COR)的影响。将大鼠随机分为模型组,药物组,针刺组,深部激光针灸 1 mW 组、5 mW 组、10 mW 组,表面激光针灸 50 mW 组、100 mW 组、150 mW 组,并设正常对照组,针灸穴位选择足三里和肾俞。治疗 10 d 后取材,采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验法(ELISA)测定血清因子水平。模型组的血清 IL-1 β 、IL-15、IL-17、TNF- α 和 VEGF 均较正常组显著升高,有统计学意义(均为 $P < 0.001$),COR 较正常组显著降低,有统计学意义($P < 0.001$)。治疗后,各治疗组的 IL-1 β 、IL-15、IL-17、TNF- α 和 VEGF 均较模型组有不同程度的降低,除个别组外,与模型组的差异均有统计学意义($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$);各治疗组的 COR 均较模型组显著升高,有统计学意义($P < 0.001$)。各治疗组间相比,血清 IL-1 β 水平在针刺组中最高,在表面激光针灸 50 mW 组中最低,二者差异有统计学意义($P < 0.05$);血清 IL-15 水平在针刺组中最高,在药物组中最低,差异无统计学意义($P > 0.05$);血清 IL-17 水平在深部激光针灸 1 mW 组中最高,在表面激光针灸 100 mW 组中最低,差异有统计学意义($P < 0.001$);血清 TNF- α 水平在深部激光针灸 1 mW 组中最高,在药物组中最低,差异有统计学意义($P < 0.001$);血清 VEGF 水平在深部激光针灸 50 mW 组中最高,在深部激光针灸 5 mW 组中最低,差异有统计学意义($P < 0.05$);血清 COR 水平在针刺组中最低,在表面激光针灸 150 mW 组中最高,差异有统计学意义($P < 0.001$)。激光针灸能够有效降低 CIA 大鼠血清 IL-1 β 、IL-15、IL-17、TNF- α 、VEGF 等促炎因子的表达水平,提高血清 COR 等抗炎因子的表达水平,其作用效果与激光针灸的作用方式和参数设置有关。

关键词 医用光学;激光针灸;类风湿关节炎;白细胞介素;肿瘤坏死因子 α ;血管内皮细胞生长因子;皮质醇
中图分类号 R318.51 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL201441.0304002

Impact of Laser Acupuncture on CIA Rat Serum IL-1 β , IL-15, IL-17, TNF- α , VEGF and COR

Zhang Haibo Li Yingxin Hu Tiantian Chen Hongli Lü Hengyong
Yang Jichun Mu Zhiming Wu Jinpeng

(Institute of Biomedical Engineering, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union
Medical College, Tianjin 300192, China)

Abstract We study the impact of laser acupuncture with different methods and parameters on type-II collagen-induced arthritis (CIA) model rat serum interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-15 (IL-15), interleukin-17 (IL-17), tumor necrosis factor α (TNF- α), vascular endothelial growth factor (VEGF) and cortisol (COR). The rats are randomly divided into model group, medication group, acupuncture group, deep laser acupuncture 1 mW group, 5 mW group, 10 mW group, the surface laser acupuncture 50 mW group, 100 mW group, 150 mW group, and normal control group is set, selecting Zusanli and Shenshu as acupuncture points. Samples are selected after 10 days

收稿日期: 2013-08-23; 收到修改稿日期: 2013-10-25

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务专项(1207)、“十二五”国家科技支撑计划(2012BAI25B03)

作者简介: 张海波(1979—),男,博士后,主要从事激光医学与中医针灸工程方面的研究。E-mail: mzhanghb@163.com

导师简介: 李迎新(1959—),男,博士,教授,博士后合作导师,主要从事激光医学方面的研究。

E-mail: yingxinli2005@aliyun.com

* 通信联系人。E-mail: microkn@aliyun.com

of treatment. We use double-antibody enzyme-linked immunosorbent sandwich assay (ELISA) to measure serum cytokine level. Serum IL-1 β , IL-15, IL-17, TNF- α and VEGF in the model group are significantly higher than those in the normal group (all $P < 0.001$), and COR is significantly lower than the normal group ($P < 0.001$). IL-1 β , IL-15, IL-17, TNF- α and VEGF in all treatment groups after treatment are reduced to different degrees compared with model group, and except individual groups, there are statistical differences ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$); COR in each treatment group is significantly higher than that in the model group ($P < 0.001$). Compared among treatment groups, serum IL-1 β level is the highest in the acupuncture group and the lowest in the surface laser acupuncture 50 mW group, and the two have statistical difference ($P < 0.05$); serum IL-15 level is the highest in the acupuncture group and the lowest in the drug group, but the difference is not statistical ($P > 0.05$); serum IL-17 level is the highest in the deep laser acupuncture 1 mW group and the lowest in the surface laser acupuncture 100 mW group, and the difference is statistical ($P < 0.001$); serum TNF- α level is the highest in deep laser acupuncture 1 mW group and the lowest in drug group, and the difference is statistical ($P < 0.001$); serum VEGF level is the highest in deep laser acupuncture 50 mW group and the lowest in the deep laser acupuncture 5 mW group, and the difference is statistical ($P < 0.05$); serum COR level is the lowest in the acupuncture group, and the highest in surface laser acupuncture 150 mW group, the difference is statistical ($P < 0.001$). Laser acupuncture can effectively reduce CIA rat serum proinflammatory cytokines levels such as IL-1 β , IL-15, IL-17, TNF- α and VEGF, increase serum anti-inflammatory cytokines levels such as COR, and its effect is related with action mode of laser acupuncture and parameter settings.

Key words medical optics; laser acupuncture; rheumatoid arthritis; interleukin; tumor necrosis factor α ; vascular endothelial growth factor; cortisol

OCIS codes 170.1610; 170.1420; 170.3890; 140.5960

1 引 言

类风湿关节炎(RA)是一种以滑膜关节慢性炎症为主要表现的全身性自身免疫性疾病^[1]。研究显示^[2],我国 RA 患病率为 0.42%,女性显著高于男性,生活质量显著低于正常人。为减轻患者痛苦,提高临床疗效,国内外相继探索了多种新型治疗方法,其中激光治疗类风湿关节炎具有疗效较好且无明显不良反应的优点,日益受到研究人员的重视^[3-7]。

激光治疗类风湿关节炎的方式多种多样,包括发病关节局部照射、血管内照射、耳内照射、激光针刀、联合药物治疗、激光光动力疗法等诸多形式^[8-13],其中激光穴位照射也即激光针灸是现代医学的激光与中医学的针灸相结合的一种新型治疗方式,在临床中取得了良好的治疗效果^[3,14-15]。但由于激光针灸治疗类风湿关节炎的机制仍不明确,在动物实验方面研究较少,限制了其在临床的进一步应用。因此,探讨激光针灸治疗类风湿关节炎的合适条件及其作用机制,能够促进激光针灸的临床应用,并提高其治疗效果。本文通过观察深部激光针灸及表面激光针灸对Ⅱ型胶原诱导的关节炎(CIA)模型大鼠血清相关因子的影响,研究了不同的激光针灸方式治疗类风湿关节炎的可能机制。

2 材 料 和 方 法

2.1 实验动物

健康无特定病原(SPF)级 Wistar 大鼠 120 只,雌

性,体质量(120 \pm 10) g,许可证号:SCXK(京)2009-0004,由北京华阜康生物科技股份有限公司提供。

2.2 实验仪器与主要试剂

激光器为波长 635 nm 的连续半导体激光器,由中国医学科学院生物医学工程研究所激光医学实验室研制,空心针针头用医用透明胶密封,采取光纤导入的方式使激光通过空心针对穴位深部进行照射。Ⅱ型胶原蛋白为北京鼎国生物技术有限公司产品,弗氏完全佐剂为美国 Sigma 公司产品,均由天津润泰科技发展有限公司提供。扶他林为北京诺华制药有限公司产品,酶标仪为美国 BIO-TEK 公司产品,洗板机为北京普朗新技术有限公司产品,电热恒温水箱为余姚市东方电工业仪器厂产品。

2.3 造模与分组

所有动物在称重编号后,随机抽取 9 只为正常组(A组,空白对照,不做任何处理),其余动物均用Ⅱ型胶原蛋白进行造模。将Ⅱ型胶原用 0.1 mol/L 的冰醋酸溶解后,配成质量浓度为 2 g/L 的溶液,置 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜,再加等体积弗氏完全佐剂,使二者在冰浴中混合、乳化,制成乳剂,使终质量浓度为 1 g/L,即每 1 mL 乳剂含 1 mg 的Ⅱ型胶原。在大鼠右后足跖部、尾根部及背部皮内多点注射 1 mL 乳剂,1 周后加强免疫 1 次,注射 0.5 mL,建立胶原诱导的大鼠实验性类风湿关节炎动物模型^[16]。造模后第 2 周,将造模成功的大鼠随机分为 9 组,其中 B 组为模型组(CIA 模型),C 组为药物治疗组(扶他林悬浮液灌胃,每天每只大鼠 0.8 mg/100g),D 组

为单纯针刺组, E 组为深部激光针灸 1 mW 组, F 组为深部激光针灸 5 mW 组, G 组为深部激光针灸 10 mW 组, H 组为表面激光针灸 50 mW 组, I 组为表面激光针灸 100 mW 组, J 组为表面激光针灸 150 mW 组。每组 9 只, 实验中均分笼饲养, 在 SPF 级动物实验室常规饮食饮水, 密切观察, 定期清洁、消毒。实验过程中对动物的处置严格遵守国家科技部《关于善待实验动物的指导意见》的规定。

2.4 取穴及针灸方法

1) 取穴: 大鼠足三里穴(又称后三里)、肾俞穴参照“十一五”国家级规划教材《实验针灸学》的定位方法^[17], 足三里在膝关节后外侧, 腓骨小头下 0.5 cm 处, 肾俞在第 2 腰椎下两旁, 左右各一穴, 实验中每次治疗单侧穴位, 左右交叉选取, 如第一天治疗选择左侧足三里、肾俞, 第二天则用右侧, 第三天再用左侧, 如此交替。针刺组与激光针灸各组在治疗前对穴区局部皮肤均进行剃毛、消毒处理。

2) 单纯针刺: 在 CIA 模型致炎后第 15 天开始, 每组以同样方式固定后, 将空心针刺入足三里穴、肾俞穴, 然后留针 10 min, 不行针, 不做手法, 每日 1 次, 共治疗 10 次。

3) 深部激光针灸: 在 CIA 模型致炎后第 15 天开始, 每组以同样方式固定后, 先将空心针刺入足三里穴、肾俞穴, 然后留针施加激光照射。激光的输出功率分别为 1.5、10 mW, 光斑直径均为 0.01 cm, 照射时间均为 10 min, 功率密度分别为 3.18、15.90、31.85 W/cm², 每日 1 次, 共治疗 10 次。

4) 表面激光针灸: 在 CIA 模型致炎后第 15 天

开始, 每组以同样的实验动物固定架固定后, 对足三里穴、肾俞穴施加激光照射。激光的输出功率分别为 50、100、150 mW, 光斑直径均为 0.3 cm, 照射时间均为 10 min, 功率密度分别为 0.71、1.42、2.12 W/cm², 每日 1 次, 共治疗 10 次。

2.5 标本采集与检测

血清因子测定: 实验结束后, 行股动脉取血, 取血后静置 30 min, 用离心机以 3000 r/min 的速度离心 15 min, 分离后取上清液, -80 °C 冰箱冷冻备用。应用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)法测定血清中白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 15(IL-15)、白细胞介素 17(IL-17)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、血管内皮细胞生长因子(VEGF)和皮质醇(COR), 检测过程严格按照 ELISA 试剂盒说明书进行。

2.6 统计学处理

应用 SPSS16.0 统计软件, 各组数据用 $\bar{x} \pm s$ (均数 \pm 标准差)来表示, 采用重复测量方差分析与多元方差分析进行组间比较, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结 果

3.1 激光针灸对 CIA 大鼠血清 IL-1 β 、IL-15、IL-17 的影响

实验结果表明(见表 1), 模型组的 IL-1 β 、IL-15 和 IL-17 均较正常组显著升高, 有统计学意义($P < 0.001$); 各治疗组的 IL-1 β 、IL-15 和 IL-17 均较模型组有不同程度的降低, 除针刺组、深部激光针灸 1 mW 组和 5 mW 组的 IL-17 与模型组差异无统计

表 1 激光针灸对 CIA 大鼠血清 IL-1 β 、IL-15、IL-17 的影响($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

Table 1 Effects of laser acupuncture on CIA rat serum IL-1 β , IL-15, IL-17($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

Group	N	IL-1 β	IL-15	IL-17
Normal control group	9	47.06 \pm 4.18	16.16 \pm 1.96	20.92 \pm 1.41
Model group	9	91.35 \pm 5.14 ^b	47.28 \pm 2.95 ^b	44.41 \pm 5.62 ^b
Medication group	9	63.55 \pm 1.45 ^{b^{dh}}	25.87 \pm 4.29 ^{ad}	30.75 \pm 1.92 ^{b^{ckm}}
Acupuncture group	9	75.33 \pm 8.10 ^{b^{ce}}	31.26 \pm 5.21 ^{bd}	37.27 \pm 3.10 ^{bf}
Deep laser acupuncture 1 mW group	9	67.38 \pm 4.87 ^{bd}	28.52 \pm 4.80 ^{ad}	40.45 \pm 2.89 ^{b^{go}}
Deep laser acupuncture 5 mW group	9	66.62 \pm 4.03 ^{bd}	29.14 \pm 3.71 ^{bd}	38.53 \pm 3.91 ^{bf}
Deep laser acupuncture 10 mW group	9	64.72 \pm 4.69 ^{bd}	29.73 \pm 6.72 ^{ad}	33.57 \pm 2.00 ^{b^{cj}}
Surface laser acupuncture 50 mW group	9	63.01 \pm 2.89 ^{b^{dh}}	28.52 \pm 5.55 ^{ad}	32.19 \pm 2.75 ^{b^{ckl}}
Surface laser acupuncture 100 mW group	9	63.46 \pm 4.17 ^{b^{dh}}	29.52 \pm 5.59 ^{ad}	28.76 \pm 2.79 ^{b^{dikmnp}}
Surface laser acupuncture 150 mW group	9	64.21 \pm 2.35 ^{bd}	27.96 \pm 4.61 ^{ad}	29.30 \pm 1.77 ^{b^{ckmop}}

Comparing with normal control group, ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.001$; comparing with model group, ^c $P < 0.01$, ^d $P < 0.001$; comparing with medication group, ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$, ^g $P < 0.001$; comparing with acupuncture group, ^h $P < 0.05$, ⁱ $P < 0.001$; comparing with deep laser acupuncture 1 mW group, ^j $P < 0.01$, ^k $P < 0.001$; comparing with deep laser acupuncture 5 mW group, ^l $P < 0.05$, ^m $P < 0.01$; comparing with deep laser acupuncture 10 mW group, ⁿ $P < 0.05$, ^o $P < 0.01$; comparing with surface laser acupuncture 50 mW group, ^p $P < 0.05$.

学意义外,其他各组与模型组差异均有统计学意义($P<0.001$ 、 $P<0.01$);针刺组的 IL-1 β 和 IL-17,深部激光针灸 1 mW 组和 5 mW 组的 IL-17 与药物组的差异均有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.001$);表面激光针灸 50 mW 组和 100 mW 组的 IL-1 β 与针刺组的差异均有统计学意义($P<0.05$),表面激光针灸的三个组的 IL-17 与针刺组的差异均有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.001$);深部激光针灸 10 mW 组和表面激光针灸三个组的 IL-17 均与深部激光针灸 1 mW 组的差异有统计学意义($P<0.01$ 、 $P<0.001$);表面激光针灸三个组的 IL-17 均与深部激光针灸 5 mW 组的差异有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.01$);表面激光针灸 100 mW 组和 150 mW 组的 IL-17 均与深部激光针灸 10 mW 组的差异有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.01$);表面激光针灸 100 mW 组和 150 mW 组的 IL-17 均与表面激光针灸 50 mW 组的差异有统计学意义($P<0.05$)。

3.2 激光针灸对 CIA 大鼠血清 TNF- α 、VEGF、COR 的影响

实验结果(见表 2)表明,模型组的血清 TNF- α 和 VEGF 均较正常组显著升高,有统计学意义($P<0.001$),COR 较正常组显著降低,有统计学意义($P<0.001$);各治疗组的 TNF- α 和 VEGF 较模型组的差异均有统计学意义,除深部激光针灸 1 mW 组的 TNF- α 与模型组差异无统计学意义外,其他各

组与模型组差异均有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.001$),各治疗组的 COR 均较模型组显著升高,有统计学意义($P<0.001$);针刺组、深部激光针灸 1 mW 组和 5 mW 组的 TNF- α 均与药物组有显著性差异($P<0.001$),针刺组、深部激光针灸 5 mW 组、表面激光针灸 50 mW 组、100 mW 组和 150 mW 组的 COR 与药物组的差异均有统计学意义($P<0.001$);深部激光针灸 1 mW 组、10 mW 组、表面激光针灸 50 mW 组、100 mW 组和 150 mW 组的 TNF- α 与针刺组的差异均有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.001$),深部激光针灸的三个组和表面激光针灸的三个组的 COR 与针刺组的差异均有统计学意义($P<0.001$);深部激光针灸 5 mW 组、10 mW 组和表面激光针灸三个组的 TNF- α 与深部激光针灸 1 mW 组的差异均有统计学意义($P<0.001$),表面激光针灸三个组的 COR 与深部激光针灸 1 mW 组的差异均有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.01$);深部激光针灸 10 mW 组和表面激光针灸三个组的 TNF- α 与深部激光针灸 5 mW 组的差异均有统计学意义($P<0.001$),表面激光针灸 50 mW 组的 VEGF 与深部激光针灸 5 mW 组的差异有统计学意义($P<0.05$),表面激光针灸 100 mW 组和 150 mW 组的 COR 与深部激光针灸 5 mW 组的差异均有统计学意义($P<0.05$);表面激光针灸三个组的 COR 与深部激光针灸 10 mW 组的差异均有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.01$)。

表 2 激光针灸对 CIA 大鼠血清 TNF- α 、VEGF、COR 的影响($\bar{x}\pm s$,pg/mL)

Table 2 Effect of laser acupuncture on CIA rat serum TNF- α 、VEGF、COR($\bar{x}\pm s$,pg/mL)

Group	N	TNF- α	VEGF	COR (ng/mL)
Normal control group	9	28.81 \pm 4.79	15.17 \pm 3.49	25.64 \pm 4.09
Model group	9	63.79 \pm 7.86 ^c	67.74 \pm 3.41 ^c	12.78 \pm 3.75 ^c
Medication group	9	40.87 \pm 7.20 ^{cf}	43.80 \pm 6.96 ^{cf}	20.45 \pm 3.72 ^{hf}
Acupuncture group	9	54.56 \pm 8.77 ^{cei}	34.64 \pm 12.26 ^{ae}	15.84 \pm 2.50 ^{edh}
Deep laser acupuncture 1 mW group	9	61.38 \pm 6.88 ^{ej}	40.00 \pm 14.37 ^{ae}	21.88 \pm 3.18 ^{afi}
Deep laser acupuncture 5 mW group	9	57.48 \pm 4.24 ^{cdio}	33.51 \pm 6.97 ^{cf}	23.42 \pm 1.94 ^{fel}
Deep laser acupuncture 10 mW group	9	42.54 \pm 6.18 ^{efloq}	45.10 \pm 8.23 ^{cf}	21.83 \pm 2.69 ^{afi}
Surface laser acupuncture 50 mW group	9	43.95 \pm 5.25 ^{efkqj}	47.78 \pm 6.88 ^{dfp}	25.45 \pm 2.13 ^{fhlmr}
Surface laser acupuncture 100 mW group	9	43.71 \pm 5.52 ^{efloq}	41.55 \pm 12.17 ^{be}	26.69 \pm 3.02 ^{filnps}
Surface laser acupuncture 150 mW group	9	45.23 \pm 4.37 ^{efkqj}	43.30 \pm 11.07 ^{be}	26.70 \pm 2.89 ^{filnps}

Comparing with normal control group, ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$, ^c $P<0.001$; comparing with model group, ^d $P<0.05$, ^e $P<0.01$, ^f $P<0.001$; comparing with medication group, ^g $P<0.05$, ^h $P<0.01$, ⁱ $P<0.001$; comparing with acupuncture group, ^j $P<0.05$, ^k $P<0.01$, ^l $P<0.001$; comparing with deep laser acupuncture 1 mW group, ^m $P<0.05$, ⁿ $P<0.01$, ^o $P<0.001$; comparing with deep laser acupuncture 5 mW group, ^p $P<0.05$, ^q $P<0.001$; comparing with deep laser acupuncture 10 mW group, ^r $P<0.05$, ^s $P<0.01$.

4 讨 论

4.1 CIA 大鼠模型的选择

为探明 RA 的病因、病理学、免疫学、临床等方面的机制,寻找更有效的治疗的方案,有学者进行了大量的动物实验和研究探讨^[18-20],并建立了一些比较成熟的整体动物病理模型。比较经典的 RA 动物模型是佐剂诱导的关节炎(AIA)模型和 II 型 CIA 模型。其中 CIA 模型是用新生小牛软骨提取天然 II 型胶原,与弗氏不完全佐剂或弗氏完全佐剂混合,采用足跖皮内注射法造模。研究表明^[21-22],CIA 模型的发病机制、临床表现、病理改变特点及免疫学指标与人 RA 具有很多的相似性,是目前国内外较为公认的研究 RA 的理想动物模型。所以,选用 CIA 作为 RA 的动物模型进行实验研究。从实验结果看,CIA 模型组血清 IL-1 β 、IL-15、IL-17、TNF- α 和 VEGF 均较正常组显著升高,有统计学意义(均为 $P < 0.001$),COR 较正常组显著降低,有统计学意义($P < 0.001$),说明 CIA 模型组大鼠血清指标的病理改变显著。

4.2 激光针灸的作用方式与参数设置

影响针灸作用的因素非常多^[23-24],针灸时机、选穴、针灸方法、针灸疗程、针灸与其他疗法的联用等都可以影响针灸治疗类风湿关节炎的效果。激光作为针灸的手段之一,其治疗类风湿关节炎的效果,除了具有一般针灸共同的影响因素之外,还有其自身的特点。一是激光作用方式。中医传统的针法是将以毫针为主的针具刺入穴位深处,灸法是将以艾为主的药物点燃后作用于穴位表面。因此,用于针灸的激光,在作用于穴位时,也有深部与表面两种作用方式。表面激光针灸是激光针灸的常用方式,深部激光针灸在 20 世纪 80 年代开始应用于临床,且对许多疾病具有显著疗效^[25-27]。激光直接导入穴位深部,可以避免激光在组织中的传输损耗,成本较低,疗效显著,但当时的深部激光针灸所采用的均为 He-Ne 激光器,体积较大,使用不方便。随着激光实用性的提高和产品成本的降低,加之光纤等激光技术的日益成熟,激光与针刺联合应用的深部激光针灸逐渐引起重视^[28]。但由于其机制研究非常薄弱,加之针刺疼痛较强,阻碍了临床上的大范围应用。二是激光参数设置。激光的波长、功率密度、能量密度、光斑面积(直径)、照射时间等参数,对激光的作用有着直接的影响。在激光治疗类风湿方面^[3-6,26-27,29],早期光源多为 He-Ne 激光,目前以半导体激光为主,波长大多从 632.8 nm 到 890 nm 不

等,光斑直径从 0.005 cm 到 5 cm 不等,照射时间从几秒钟到几十分钟不等,功率密度从 0.10 W/cm² 到几十乃至上百 W/cm² 不等,能量密度从几 J/cm² 到几千乃至上万 J/cm² 不等。

实验中用 635 nm 波长的激光照射足三里和肾俞穴表面,作为表面激光针灸;用空心针将 635 nm 波长的激光引入足三里和肾俞穴深部进行照射,作为深部激光针灸。结果显示,在相同的穴位(足三里和肾俞)、波长(635 nm)、光斑直径(深部 0.01 cm,表面 0.3 cm)和照射时间(10 min)等条件下,激光针灸的作用效果与激光的输出功率有一定的关系,实验中表面激光针灸 50 mW 组降低血清 IL-1 β 的作用最好、表面激光针灸 100 mW 组降低血清 IL-17 的作用最好、表面激光针灸 150 mW 组提高血清 COR 的作用最好、深部激光针灸 5 mW 组降低血清 VEGF 的作用最好。这说明,在应用激光针灸治疗类风湿关节炎时,激光的作用方式和参数设置与其治疗效果之间存在一定的量效关系,值得进一步研究。

本实验只是以空心针作为引导针,刺入穴位后没有进行针刺的手法操作,如果结合手法操作,将会有怎样的效果,有待进一步研究。此外,深部激光针灸与表面激光针灸二者联合应用的治疗效果是否会加强,也是值得进一步研究的问题。

4.3 激光针灸对血清因子的调整作用

细胞因子是一种介导细胞与细胞间相互联系的小分子量蛋白,可以由 RA 滑膜细胞及滑膜组织中浸润的单核/巨噬细胞、淋巴细胞等通过自分泌或旁分泌的方式产生,它们与靶细胞膜特异性受体结合,进一步激活第二信号旁路和其他细胞内机制,最终引起基因转录和蛋白表达。细胞因子参与了 RA 的整个病理过程,是引起炎症免疫、蛋白质水解、细胞募集和增殖的重要媒介,在 RA 滑膜病变中起核心作用。研究发现^[30],细胞因子网络失衡在 RA 的发病和进展中发挥着重要作用,该病的加重或好转依赖于促炎性细胞因子和抗炎性细胞因子之间的动态变化,其中 IL-1 β 、IL-15、IL-17、IL-33、TNF- α 等促炎性细胞因子在 RA 滑膜病变中起核心作用,而 IL-4、IL-10、TGF- β 等抗炎性细胞因子却可以起到减轻关节损伤的作用。针灸对细胞因子具有调节作用^[15,31-34],能够抑制促炎性因子,增强抗炎性细胞因子,起到治疗 RA 的作用。

IL-1 β 、IL-15 和 IL-17 都参与了 RA 的多个发病环节,在 RA 的进展中扮演着重要的角色。其中 IL-17 是近几年才发现的一种前炎症细胞因子,在

类风湿关节炎小鼠模型中, Th17 细胞能够高水平地分泌 IL-17, 与严重的关节破坏相关^[35], 而且 IL-17 能够促进滑膜细胞分泌多种细胞因子, 并能诱导活化 Th17 细胞, 促进 Th17 细胞增殖^[36]。IL-17 还可促进补体 C3 等急性期反应蛋白的产生, 诱导炎症反应, 并协同其他致炎因子, 导致 RA 的进一步发展^[37-38]。此外, IL-17 还直接刺激破骨细胞的分化, 诱导核因子 κ B 受体活化因子配体 (RANKL) 和基质金属蛋白酶 (MMPs) 的表达, 增强破骨细胞活性, 导致骨侵蚀^[39-40]。因此 IL-17 以及以分泌 IL-17 为主要特征的 Th17 细胞可能在类风湿关节炎疾病中发挥了重要作用^[41]。TNF- α 作为一种重要的促炎细胞因子, 能够上调单核巨噬细胞 MMP-9 表达及活化, 增强炎症细胞的侵蚀力, 促进 RA 关节破坏, 在 RA 致病过程中起到了重要作用^[42-43]。抑制 IL-1 β 、IL-15、IL-17、TNF- α 等促炎性细胞因子, 是治疗类风湿关节炎的重要途径。研究表明^[3, 15], 激光针灸能够降低类风湿关节炎患者或模型大鼠异常升高的 IL-1 和 TNF- α 水平, 而且疗效优于纯药物治疗。

从实验结果分析, 与正常组相比, 模型组的血清 IL-1 β 、IL-15、IL-17、TNF- α 均较正常组显著升高 (均为 $P < 0.001$), COR 较正常组显著降低 ($P < 0.001$), 这与其他学者的研究结果一致, 提示造模成功。与模型组相比, 各治疗组的 IL-1 β 、IL-15、IL-17、TNF- α 和 VEGF 均较模型组有不同程度的降低, 除针刺组、深部激光针灸 1 mW 组和 5 mW 组的 IL-17 与模型组差异不显著, 深部激光针灸 1 mW 组的 TNF- α 与模型组差异不显著外, 其他各组均有显著性差异 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$), 提示激光针灸、药物、针刺等各治疗措施均能有效降低血清 IL-1 β 、IL-15、IL-17、TNF- α 水平, 这进一步印证了激光针灸、药物、针刺治疗的有效性。

为进一步探讨哪种治疗方式更有效, 对各治疗组间进行比较发现, 血清 IL-1 β 水平在针刺组中最高, 在表面激光针灸 50 mW 组中最低, 表面激光针灸 100 mW 组和药物组较低, 且后者三个组与前者相比差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示表面激光针灸 50 mW 组降低血清 IL-1 β 水平的作用最好, 表面激光针灸 100 mW 组和药物组次之, 这三个组效果均明显优于针刺组。与针刺组相比, 深部激光针灸三个组、表面激光针灸 150 mW 组与其差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 提示深部激光针灸三个组、表面激光针灸 150 mW 组与针刺组效果无显著区别。与药物组相比, 激光针灸各组与其差异均无统

计学意义 ($P > 0.05$), 提示激光针灸各组与药物组效果无明显区别。血清 IL-15 水平在针刺组中最高, 在药物组中最低, 但二者相比没有统计学意义 ($P > 0.05$), 提示各治疗组降低血清 IL-15 水平的作用无显著区别。血清 IL-17 水平在深部激光针灸 1 mW 组中最高, 在表面激光针灸 100 mW 组中最低, 表面激光针灸 150 mW 组、药物组、表面激光针灸 50 mW 组和深部激光针灸 10 mW 组较低, 且后者四组与前者相比均有显著性差异 ($P < 0.01$ 、 $P < 0.001$), 提示表面激光针灸 100 mW 组降低血清 IL-17 水平的作用最好, 表面激光针灸 150 mW 组、药物组、表面激光针灸 50 mW 组和深部激光针灸 10 mW 组次之。与针刺组相比, 表面激光针灸三个组与其差异均有统计学意义 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$), 深部激光针灸三个组与其差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 提示表面激光针灸效果优于针刺组, 而深部激光针灸与针刺组效果无显著区别。与药物组相比, 深部激光针灸 1 mW 和 5 mW 组与其差异有统计学意义 ($P < 0.01$ 、 $P < 0.001$), 深部激光针灸 10 mW 组和表面激光针灸的三个组与其差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 提示深部激光针灸 1 mW 和 5 mW 组效果不如药物组, 深部激光针灸 10 mW 组和表面激光针灸三个组效果与药物组无显著区别。血清 TNF- α 水平在深部激光针灸 1 mW 组中最高, 在药物组中最低, 深部激光针灸 10 mW 组、表面激光针灸 100 mW 组、表面激光针灸 50 mW 组、表面激光针灸 150 mW 组、针刺组和深部激光针灸 5 mW 组较低, 且后者七组与前者相比均有显著性差异 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.001$), 提示药物组降低血清 TNF- α 水平的作用最好, 深部激光针灸 10 mW 组、表面激光针灸 100 mW 组、表面激光针灸 50 mW 组、表面激光针灸 150 mW 组、针刺组和深部激光针灸 5 mW 组次之。与针刺组相比, 表面激光针灸三个组及深部激光针灸 10 mW 和 1 mW 组与其差异均有统计学意义 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$), 深部激光针灸 5 mW 组与其差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 提示表面激光针灸三个组及深部激光针灸 10 mW 组效果明显优于针刺组, 而深部激光针灸 1 mW 组效果明显不如针刺组, 深部激光针灸 5 mW 组与针刺组效果无显著区别。与药物组相比, 深部激光针灸 1 mW 和 5 mW 组与其差异有统计学意义 (均 $P < 0.001$), 深部激光针灸 10 mW 组和表面激光针灸的三个组与其差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 提示深部激光针灸 1 mW 和 5 mW 组

效果明显不如药物组,深部激光针灸 10 mW 组和表面激光针灸三个组效果与药物组无显著区别。

VEGF 是一种具有高度生物活性的糖蛋白,又名血管通透性因子。已有研究证实^[44-45],血清 VEGF 与关节受累的范围及关节病变程度呈正相关,血清 VEGF 水平可以作为判断风湿性关节炎病情及预后的重要指标。新生血管生成是 RA 发生和发展的关键步骤,多种因素可上调 VEGF,通过其受体特异性作用于血管内皮细胞,促进血管内皮的增生,从而促进新生血管和血管翳的形成^[46]。此外,VEGF 还能明显提高血管的通透性,促进炎症的形成和发展,尤其对慢性炎症的形成具有重要意义^[47]。因此,降低异常升高的血清 VEGF 水平,可以有效抑制滑膜血管增生及滑膜炎的发展^[48]。

从实验结果分析,与正常组相比,模型组的血清 VEGF 较正常组显著升高($P < 0.001$),这与其他学者的研究结果一致,提示造模成功。与模型组相比,各治疗组的 VEGF 均较模型组有不同程度的降低,其差异有统计学意义($P < 0.01$ 、 $P < 0.001$),提示激光针灸、药物、针刺等各治疗措施均能有效降低血清 VEGF 水平,这进一步印证了激光针灸、药物、针刺治疗的有效性。为进一步探讨哪种治疗方式更有效,对各治疗组间进行比较发现,血清 VEGF 水平在表面激光针灸 50 mW 组中最高,在深部激光针灸 5 mW 组中最低,且后者与前者相比有显著性差异($P < 0.05$),提示深部激光针灸 5 mW 组降低血清 VEGF 水平的作用最好。与针刺组相比,激光针灸各组与其差异均无统计学意义($P > 0.05$),提示激光针灸各组与针刺组效果无明显区别。与药物组相比,激光针灸各组与其差异均无统计学意义($P > 0.05$),提示激光针灸各组与药物组效果无明显区别。

早在 1949 年,就有研究人员提出皮质醇的分泌不足是 RA 的重要发病因素之一^[49]。以后的研究^[50-52]表明,RA 的发病及预后与肾上腺皮质激素相对不足,尤其是皮质醇水平的降低有明显关系,活动期 RA 患者血中高水平的炎性细胞因子与低水平的皮质醇有关,是滑膜炎产生和持续存在的重要因素。1977 年 Besedovsky 等^[53]提出神经内分泌免疫网络(NEI)的概念,该网络系统在 RA 的发病机制中日益受到重视。NEI 对机体的调节作用主要通过下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPAA)实现。HPAA 在 IL-1、IL-6、IL-17、TNF- α 等炎性细胞因子及其他炎症介质的刺激下分泌肾上腺皮质激素释放激素、促肾上腺皮质激素和肾上腺皮质激素(主要是皮质醇),肾上腺皮

质激素有抑制炎症和免疫应答作用,从而通过反馈调节,抑制炎性细胞因子的合成和释放^[54]。此外,HPAA 轴还能通过其分泌的糖皮质激素(主要是皮质醇)抑制淋巴细胞的增值,抑制抗原-抗体反应后的免疫球蛋白、细胞因子、炎症介质和白三烯的产生,从而达到抗炎的目的。临床应用小剂量激素治疗 RA 有效也支持这一观点,但因外源性激素对人体还产生诸多副作用,其应用受限。而针灸对血清皮质醇有明显的调整作用^[55-56],能够升高因类风湿关节炎降低的内源性血清皮质醇水平。

从实验结果分析,与正常组相比,模型组的血清 COR 较正常组显著降低($P < 0.001$),这与其他学者的研究结果一致^[56-57],提示造模成功。与模型组相比,各治疗组的 COR 均较模型组显著升高($P < 0.001$),提示激光针灸、药物、针刺等各治疗措施均能有效提高血清 COR 水平,这进一步印证了激光针灸、药物、针刺治疗的有效性。为进一步探讨哪种治疗方式更有效,对各治疗组间进行比较发现,血清 COR 水平在针刺组中最低,在表面激光针灸 150 mW 组中最高,表面激光针灸 100 mW 组、表面激光针灸 50 mW 组、深部激光针灸 5 mW 组、深部激光针灸 1 mW 组和深部激光针灸 10 mW 组较高,且后者六组与前者相比均有显著性差异(均 $P < 0.001$),提示表面激光针灸 150 mW 组提高血清 COR 的作用最好,表面激光针灸 100 mW 组、表面激光针灸 50 mW 组、深部激光针灸 5 mW 组、深部激光针灸 1 mW 组和深部激光针灸 10 mW 组次之,这 6 个组效果均明显优于针刺组。与药物组相比,深部激光针灸 5 mW 组和表面激光针灸三个组与其差异均有统计学意义($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$),深部激光针灸 1 mW 和 10 mW 组与其差异均无统计学意义($P > 0.05$),提示深部激光针灸 5 mW 组和表面激光针灸三个组的效果均明显优于药物组,深部激光针灸 1 mW 和 10 mW 组的效果与药物组无明显区别。

国内外大量关于针刺、电针、温针灸、电热针、艾灸等的研究业已证明,针灸可以对 RA 模型动物多个方面发挥治疗作用,具有良好的抗炎、镇痛、免疫调节和改善血液循环的作用,提示针灸对 RA 的作用机理是多途径、多靶点、多水平的整体调整^[58]。激光针灸治疗 RA 的机制可能包括以下几个方面:一是激光针灸能够直接抑制血清 IL-1 β 、IL-15、IL-17、TNF- α 、VEGF 等促炎性因子,起到降低炎症反应与关节破坏的作用。二是激光针灸能够直接抑制

VEGF 等血管生成因子,进而抑制类风湿血管翳的形成,降低关节损伤。三是激光针灸能够提高肾上腺皮质激素皮质醇的水平,并可能通过 HPA 轴影响神经和免疫系统,进而发挥治疗作用。可见,激光针灸能从多靶点、多环节、多层次、多途径对 RA 发挥整体调节作用。

4.4 激光针灸的安全性

作为激光针灸研究中的重要内容,激光针灸的安全性一直是影响其临床应用的主要问题之一。在实验中发现,对实验对象而言,表面激光针灸的 100 mW 组和 150 mW 组大鼠出现了不同程度的穴区局部组织灼伤的情况,虽然比较轻微,但确实出现了肉眼可见的局部组织损伤,这可能与激光功率密度或能量密度较大有关。比较有趣的是,实验中这两组大鼠穴区局部组织虽然被灼伤,但在接受激光治疗时,并未出现躁动不安等应激反应。因此,除了单纯的损伤之外,这种损伤是否是一种良性应激源,是否类似于中医灸法中的瘢痕灸,均有待进一步的研究。对实验操作人员而言,由于激光的输出功率较大,有可能对眼睛造成伤害,因此在实验中,操作人员必须带上防护眼镜,避免直视光源,以保护眼睛的安全。

5 结 论

综上所述,激光针灸能够有效降低 CIA 大鼠血清 IL-1 β 、IL-15、IL-17、TNF- α 、VEGF 等促炎因子的表达水平,提高血清 COR 等抗炎因子的表达水平。激光针灸各组对不同指标的影响程度因其作用方式及参数设置的不同而有所差异,其中,表面激光针灸 50 mW 组降低血清 IL-1 β 水平的作用最好,表面激光针灸 100 mW 组和药物组次之。各治疗组降低血清 IL-15 水平的作用没有明显差别。表面激光针灸 100 mW 组降低血清 IL-17 水平的作用最好,表面激光针灸 150 mW 组、药物组、表面激光针灸 50 mW 组和深部激光针灸 10 mW 组次之。药物组降低血清 TNF- α 水平的作用最好,深部激光针灸 10 mW 组、表面激光针灸 100 mW 组、表面激光针灸 50 mW 组、表面激光针灸 150 mW 组、针刺组和深部激光针灸 5 mW 组次之。深部激光针灸 5 mW 组降低血清 VEGF 水平的作用最好。表面激光针灸 150 mW 组提高血清 COR 水平的作用最好,表面激光针灸 100 mW 组、表面激光针灸 50 mW 组、深部激光针灸 5 mW 组、深部激光针灸 1 mW 组和深部激光针灸 10 mW 组次之。如果将多种作用方

式及参数设置相结合,是否会提高其作用效果,尚待进一步的研究。

参 考 文 献

- Chen Haozhu, Lin Guowei. Practice of Internal Medicine (The 13th Edition)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2009. 2708.
陈灏珠,林果为. 实用内科学(第 13 版)[M]. 北京:人民卫生出版社, 2009. 2708.
- Zeng Xiaofeng, Zhu Songlin, Tan Aichun, *et al.*. Disease burden and quality of life of rheumatoid arthritis in China: a systematic review[J]. Chin J Evid-Based Med, 2013, 13(3): 300-307.
曾小峰,朱松林,谭爱春,等. 我国类风湿关节炎疾病负担和生存质量研究的系统评价[J]. 中国循证医学杂志, 2013, 13(3): 300-307.
- Wu Hong, Song Zhaoliang, Fu Xinli, *et al.*. The comparable study between laser and drug in the treatment of rheumatoid arthritis[J]. Laser J, 2004, 25(2): 80-81.
武宏,宋昭亮,付新利,等. 激光穴位照射与药物治疗类风湿关节炎的对比研究[J]. 激光杂志, 2004, 25(2): 80-81.
- Meireles S M, Jones A, Natour J. Low-level laser therapy on hands of patients with rheumatoid arthritis[J]. Clin Rheumatol, 2011, 30(1): 147-148.
- Meireles S M, Jones A, Jennings F, *et al.*. Assessment of the effectiveness of low-level laser therapy on the hands of patients with rheumatoid arthritis: a randomized double-blind controlled trial[J]. Clin Rheumatol, 2010, 29(5): 501-509.
- Alves A C, de Carvalho P, Parente M, *et al.*. Low-level laser therapy in different stages of rheumatoid arthritis: a histological study[J]. Lasers Med Sci, 2013, 28(2): 529-536.
- Chen Chengmei, Chen Ruilin, Qiu Kewei. Analgesic effective observation of super laser for treating rheumatoid arthritis and its nursing care[J]. Modern Med Health, 2011, 27(16): 2447-2448.
陈成妹,陈瑞林,邱可为. 超激光疼痛治疗仪治疗类风湿关节炎止痛疗效观察和护理[J]. 现代医药卫生, 2011, 27(16): 2447-2448.
- Pan Wenping, Ma Lili, Zhuang Guiying, *et al.*. Effect of Ga-Al-As laser irradiation on CD4+CD25+ regulatory T cells and local inflammatory media in rheumatoid arthritis[J]. Chin J Phys Med Rehabil, 2011, 33(2): 141-144.
潘文萍,马丽莉,庄桂英,等. 镓铝砷激光局部治疗对类风湿关节炎患者调节 T 细胞和局部炎性介质的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2011, 33(2): 141-144.
- Xiao Xuelü, Liang Xiaoping, Xiao Xuechang, *et al.*. Therapeutic effect of intravascular laser irradiation on blood on the elderly patients with rheumatoid arthritis[J]. Chin J Phys Med Rehabil, 2003, 25(3): 174-176.
肖学吕,梁晓萍,肖学长,等. 激光血管内照射对老年类风湿性关节炎的治疗作用[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2003, 25(3): 174-176.
- Sun Xingjiong, Tan Weiyi. The ear laser in the treatment of rheumatoid arthritis [J]. Foreign Med Sci: Physical Med Rehabilitation, 2001, 21(2): 62-64.
孙星炯,谭维溢. 耳内激光治疗类风湿性关节炎[J]. 国外医学(物理医学与康复学分册), 2001, 21(2): 62-64.
- Du Xuehui. Effects on 100 cases of the combination of laser needle-knife and methotrexate for intra-articular injection therapy on rheumatoid arthritis [J]. Chinese J Trad Med Traum & Orthop, 2011, 19(5): 52.
杜学辉. 激光针刀配合甲氨蝶呤关节腔注射治疗类风湿关节炎 100 例[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2011, 19(5): 52.
- Huang Xiaojuan, Jiang Pengna, Li Lianmao, *et al.*. Clinical

- research of Chinese medicine inunction wet dressing therapy and helium neon laser in the treatment of rheumatoid arthritis[J]. *China Pharm*, 2010, 21(27): 2572-2574.
- 黄晓娟, 蒋鹏娜, 李连茂, 等. 中药涂擦塌渍联合氦氛激光照射治疗类风湿关节炎的临床研究[J]. *中国药房*, 2010, 21(27): 2572-2574.
- 13 Duan Lifeng, Yang Qiong, Wang Hongfei, *et al.*. Photodynamic therapy for the treatment of rheumatoid arthritis: an experimental study[J]. *Chin Remed Clin*, 2013, 13(4): 420-423.
- 段丽凤, 杨琼, 王宏飞, 等. 光动力疗法治疗早期类风湿关节炎的实验研究[J]. *中国药物与临床*, 2013, 13(4): 420-423.
- 14 Liu Puhe, Xu Guoxiang. Indications and contraindications of laser therapy[J]. *Chinese J Lasers*, 1984, 11(6): 373-380.
- 刘普和, 徐国祥. 激光治疗的适应症与禁忌症[J]. *中国激光*, 1984, 11(6): 373-380.
- 15 Li Dake, Wu Hong, Zhao Hongbing. The effect of laser irradiation on the level of histamine, 5-HT, IL-1 and TNF- α in serum and β -EP in brain tissue in rat with rheumatoid arthritis[J]. *Chin J Phys Med Rehabil*, 2008, 30(6): 381-383.
- 李大可, 武宏, 赵宏兵. 激光穴位照射对类风湿性关节炎大鼠血清炎性介质、细胞因子及脑 β -内啡肽的影响[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2008, 30(6): 381-383.
- 16 Du Lijun, Zhao Yunan. Experimental Animal and Animal Experiment Model[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2012. 350.
- 杜力军, 赵玉男. 实验动物与实验动物模型[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2012. 350.
- 17 Li Zhongren. Experimental Acupuncture Science[M]. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine, 2011. 255.
- 李忠仁. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2011. 255.
- 18 Cai Wenhong, Sun Baodong, Zhang Baofeng, *et al.*. Advances in research on animal models of rheumatoid arthritis [J]. *Chin Modern Med*, 2012, 19(4): 10-12.
- 蔡文虹, 孙保东, 张宝凤, 等. 类风湿性关节炎动物模型研究进展[J]. *中国当代医药*, 2012, 19(4): 10-12.
- 19 Sun Lili, Zhou Linan. Advances in research on animal models of rheumatoid arthritis[J]. *Chin Prac Med*, 2011, 6(24): 244-245.
- 孙莉莉, 周麟楠. 类风湿性关节炎动物模型的研究进展[J]. *中国实用医药*, 2011, 6(24): 244-245.
- 20 Jiang Hui, Gao Jiarong, Deng Longfei, *et al.*. Summary of the study on animal models of rheumatoid arthritis [J]. *Rheumatism and Arthritis*, 2013, 2(1): 64-66.
- 姜辉, 高家荣, 邓龙飞, 等. 类风湿性关节炎动物模型研究概况[J]. *风湿病与关节炎*, 2013, 2(1): 64-66.
- 21 Zhang Minna. Evaluation of the study on animal models of rheumatoid arthritis[J]. *Laboratory Animal Sci*, 2011, 28(4): 57-59.
- 张敏娜. 类风湿性关节炎的实验动物模型及其评价[J]. *实验动物科学*, 2011, 28(4): 57-59.
- 22 Hu Wubin, Hu Ling, Tang Zhaoliang, *et al.*. Review of the study on animal models of rheumatoid arthritis [J]. *Chin J Integrated Tradit Western Med*, 2011, 31(9): 1290-1294.
- 胡吴斌, 胡玲, 唐照亮, 等. 类风湿性关节炎实验动物模型研究与评述[J]. *中国中西医结合杂志*, 2011, 31(9): 1290-1294.
- 23 Lin Dong, Wu Qiang. Deconstruction of the clinical research model for acupuncture effects[J]. *Chin Acupunct Moxibust*, 2012, 32(2): 97-100.
- 林栋, 吴强. 针灸效应临床研究模式的解构[J]. *中国针灸*, 2012, 32(2): 97-100.
- 24 Yan Suzhen, Xu Lanfeng. Factors analysis on acupuncture effect of influence of rheumatoid arthritis[J]. *Chin J Chin Med*, 2012, 27(1): 107-109.
- 颜素珍, 徐兰凤. 影响类风湿关节炎针灸效应的多因素分析[J]. *中医学报*, 2012, 27(1): 107-109.
- 25 Mao Haitao, Li Fangzheng, Bu Hongjian, *et al.*. A modulated type deep multi-beam laser acupuncture stimulator[J]. *Chin J Med Instrumentation*, 1988, (5): 282-283.
- 毛海涛, 李方正, 卜宏建, 等. 调制型深部多束激光针灸仪[J]. *中国医疗器械杂志*, 1988, (5): 282-283.
- 26 Yi Jingqiu, Li Yi, Xu Weixin, *et al.*. Observation on 98 cases of therapeutic effect of deep He-Ne laser acupuncture on lumbocurral pain[J]. *J Norman Bethune Univ*, 1990, (6): 594-595.
- 伊静秋, 李伊, 许维新, 等. 刺入式氦氛激光针灸治疗腰腿疼痛 98 例疗效观察[J]. *白求恩医科大学学报*, 1990, (6): 594-595.
- 27 Chi Zhenrong, Men Shouchun, Wang Xiuchun, *et al.*. Clinical observation on 690 cases of laser acupuncture deep irradiation[J]. *Shandong J Tradit Chin Med*, 1991, 10(4): 14-15.
- 迟振荣, 门守纯, 王秀春, 等. 激光针灸深部照射 690 例临床观察[J]. *山东中医杂志*, 1991, 10(4): 14-15.
- 28 Liang Kailai. Design of Laser Acupuncture with Deeper Depth Penetration and Its Pathology Experiment [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2006. 1-20.
- 梁开来. 体内深度激光针灸治疗仪的研制及其动物实验[D]. 上海: 上海交通大学, 2006. 1-20.
- 29 Ekim A, Armagan O, Tascioglu F, *et al.*. Effect of low level laser therapy in rheumatoid arthritis patients with carpal tunnel syndrome[J]. *Swiss Med Wkly*, 2007, 137(23-24): 347-352.
- 30 Ding Limin, Sun Wanbang. The progress of study about cytokines on the rheumatoid arthritis nosogenesis [J]. *Chin Modern Med*, 2012, 19(7): 12-14.
- 丁立珉, 孙万邦. 细胞因子在类风湿关节炎发病机制中作用的研究进展[J]. *中国当代医药*, 2012, 19(7): 12-14.
- 31 Bernateck M, Becker M, Schwake C, *et al.*. Adjuvant auricular electroacupuncture and autogenic training in rheumatoid arthritis: a randomized controlled trial[J]. *Forsch Komplementmed*, 2008, 15(4): 187-193.
- 32 Ouyang B S, Gao J, Che J L, *et al.*. Effect of electroacupuncture on tumor necrosis factor- α and vascular endothelial growth factor in peripheral blood and joint synovia of patients with rheumatoid arthritis[J]. *Chin J Integr Med*, 2011, 17(7): 505-509.
- 33 Liu Xide, Zhang Jinlu, Zheng Hanguang, *et al.*. Effects of bee-sting therapy on TNF- α and IL-1 β in peripheral blood of rheumatoid arthritis patients[J]. *Chin Arch J Tradit Chin Med*, 2008, 26(5): 996-997.
- 刘喜德, 张金禄, 郑汉光, 等. 蜂针疗法对类风湿关节炎患者外周血 TNF- α IL-1 β 的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2008, 26(5): 996-997.
- 34 Ouyang Basi, Che Jianli, Gao Jie, *et al.*. Effects of electroacupuncture and simple acupuncture on changes of IL-1, IL-4, IL-6 and IL-10 in peripheral blood and joint fluid in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Chin Acupunct Moxibust*, 2010, 30(10): 840-844.
- 欧阳八四, 车建丽, 高洁, 等. 电针与单纯针刺对类风湿关节炎患者外周血与关节滑液中白介素改变作用的观察[J]. *中国针灸*, 2010, 30(10): 840-844.
- 35 Pernis A B. Th17 cells in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus[J]. *J Intern Med*, 2009, 265(6): 644-652.
- 36 Neumann E, Lefevre S, Zimmermann B, *et al.*. Rheumatoid arthritis progression mediated by activated synovial fibroblasts [J]. *Trends in Molecular Medicin*, 2010, 16(10): 458-468.
- 37 Ospelt C, Gay S. The role of resident synovial cells in destructive arthritis[J]. *Best Practice Res Clin Rheumatol*, 2008, 22(2): 239-252.
- 38 Patel D N, King C A, Bailey S R, *et al.*. Interleukin-17

- stimulates C-reactive protein expression in hepatocytes and smooth muscle cells via p38 MAPK and ERK1/2-dependent NF- κ B and C/EBP β activation[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(37): 27229-27238.
- 39 Ju J H, Cho M L, Jun J Y, *et al.*. Oral administration of type-II collagen suppresses IL-17 associated RANKL expression of CD4+T cells in collagen-induced arthritis[J]. *Immunol Lett*, 2008, 117(1): 16-25.
- 40 Schett G, Middleton S, Bolon B, *et al.*. Additive bone-protective effects of anabolic treatment when used in conjunction with RANKL and tumor necrosis factor inhibition in two rat arthritis models[J]. *Arthritis Rheum*, 2005, 52(5): 1604-1611.
- 41 Tang Bixia, Zhang Xuan, Tang Fulin. Relationship between IL-17 and autoimmune diseases[J]. *Basic Med Sci Clin*, 2008, 28(1): 94-97.
- 唐碧霞, 张 烜, 唐福林. IL-17 与自身免疫性疾病关系的研究进展[J]. *基础医学与临床*, 2008, 28(1): 94-97.
- 42 Huang Bei, Wang Qingtong, Liu Kangkang, *et al.*. Relationship between TNF- α signaling pathway and the function of CD4+T cell subsets in rheumatoid arthritis[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2013, 29(7): 900-903.
- 黄 蓓, 汪庆童, 刘亢亢, 等. 类风湿关节炎发生发展中 TNF- α 信号通路 with CD4+T 细胞的关系[J]. *中国药理学通报*, 2013, 29(7): 900-903.
- 43 Xie Jianmin, Wang Haowen, Lu Caisheng, *et al.*. Association of TNF- α upregulation of MMP-9 activation in monocyte-derived macrophages with progression of joint damage in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Chin J Pathophysiol*, 2009, 25(6): 1181-1185.
- 谢建民, 王好问, 陆才生, 等. TNF- α 上调单核巨噬细胞 MMP-9 的活性与类风湿关节炎关节破坏的关系[J]. *中国病理生理杂志*, 2009, 25(6): 1181-1185.
- 44 Paleolog E M, Miotla J M. Angiogenesis in arthritis; role in disease pathogenesis and as a potential therapeutic target [J]. *Angiogenesis*, 1998, 2(4): 295-307.
- 45 Maeno N, Takei S, Imanaka H, *et al.*. Increased circulating vascular endothelial growth factor is correlated with disease activity in polyarticular juvenile rheumatoid arthritis [J]. *J Rheumatol*, 1999, 26(10): 2244-2248.
- 46 Moon S J, Park M K, Oh H J, *et al.*. Engagement of toll-like receptor 3 induces vascular endothelial growth factor and interleukin-8 in human rheumatoid synovial fibroblasts [J]. *Korean J Intern Med*, 2010, 25(4): 429-435.
- 47 Wang C H, Yao H, Chen L N, *et al.*. CD147 induces angiogenesis through a vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible transcription factor 1 α -mediated pathway in rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(6): 1818-1827.
- 48 Li Zeguang, Liang Hua, Huang Jifeng, *et al.*. The effect of Wulongdan on the VEGF of the collagen-induced rat with rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatism and Arthritis*, 2013, 2(3): 18-20, 24.
- 李泽光, 梁 华, 黄吉峰, 等. 乌龙丹对胶原诱导关节炎大鼠血管内皮生长因子的影响[J]. *风湿病与关节炎*, 2013, 2(3): 18-20, 24.
- 49 Li S, Lu A, Li B, *et al.*. Circadian rhythms on hypothalamic-pituitary-adrenal axis hormones and cytokines of collagen induced arthritis in rats[J]. *J Autoimmun*, 2004, 22(4): 277-285.
- 50 Jiang Ming, David Yu, Lin Xiaoyi, *et al.*. *Chinese Rheumatology [M]*. Beijing: Huanxia Publishing House, 2004. 189-204.
- 蒋 明, David Yu, 林孝义, 等. *中华风湿病学[M]*. 北京: 华夏出版社, 2004. 189-204.
- 51 Straub R H, Weidler C, Demmel B, *et al.*. Renal clearance and daily excretion of cortisol and adrenal androgens in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus[J]. *Ann Rheum Dis*, 2004, 63(8): 961-968.
- 52 Straub R H, Pongratz G, Cutolo M, *et al.*. Increased cortisol relative to adrenocorticotropic hormone predicts improvement during anti-tumor necrosis factor therapy in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(4): 976-984.
- 53 Besedovsky H O, Sorkin E. Network of immune-neuroendocrine interactions[J]. *Clin Exp Immunol*, 1977, 27(1): 1-12.
- 54 Li Zhanguo, Zhang Fengchun, Bao Chunde. *Rheumatoid Arthritis [M]*. Beijing: People's Medical Publishing House, 2009. 21-71.
- 栗占国, 张奉春, 鲍春德. *类风湿关节炎[M]*. 北京: 人民卫生出版社, 2009. 21-71.
- 55 Sun Yunting, Wang Shuling, Li Lin, *et al.*. Influence of day-prescription acupuncture on serum cortisol content of adjuvant arthritis (AA) rats[J]. *Chin Arch J Tradit Chin Med*, 2009, 27(1): 170-172.
- 孙云延, 王淑玲, 李 琳, 等. 纳甲法针刺对 AA 大鼠血清皮质醇含量的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2009, 27(1): 170-172.
- 56 Li Hui, Deng Chunlei. Influence of red-hot needle puncture on serum cortisol and IL-1 β in a rat model of rheumatoid arthritis [J]. *Shanghai J Acupunct Moxib*, 2006, 25(2): 37-39.
- 李 晖, 邓春雷. 火针对类风湿关节炎模型大鼠血清皮质醇和 IL-1 β 的影响[J]. *上海针灸杂志*, 2006, 25(2): 37-39.
- 57 Zhang Aiguo, Wang Zhiwen, Yuan Qiang, *et al.*. Study on the effect of Shexiang Wulong pills on hormone level of AA rats[J]. *Chin J Hosp Pharm*, 2008, 28(15): 1280-1281.
- 张爱国, 王志文, 袁 强, 等. 麝香乌龙丸对佐剂性关节炎大鼠激素水平的影响[J]. *中国医院药学杂志*, 2008, 28(15): 1280-1281.
- 58 Fang Yigong, Liu Xuguang, Wu Fudong. Progress in the research on the regulating action of signaling molecule of acupuncture and moxibustion for rheumatoid arthritis[J]. *Chin Arch J Tradit Chin Med*, 2006, 24(8): 1447-1449.
- 房毅恭, 刘旭光, 吴富东. 针灸对类风湿性关节炎信号转导分子调节作用的研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2006, 24(8): 1447-1449.

栏目编辑: 韩 峰