



中国比较医学杂志
Chinese Journal of Comparative Medicine
ISSN 1671-7856, CN 11-4822/R

《中国比较医学杂志》网络首发论文

题目：体外冲击波通过 ERK1/2 通路调控 KOA 兔软骨细胞自噬的机制
作者：温博珺，王子豪，朱仕强，许建峰，林瑞珠
收稿日期：2026-03-02
网络首发日期：2026-05-15
引用格式：温博珺，王子豪，朱仕强，许建峰，林瑞珠. 体外冲击波通过 ERK1/2 通路调控 KOA 兔软骨细胞自噬的机制[J/OL]. 中国比较医学杂志.
<https://link.cnki.net/urlid/11.4822.R.20260515.0959.002>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

体外冲击波通过 ERK1/2 通路调控 KOA 兔软骨细胞自噬的机制

温博珺^{1,2}, 王子豪³, 朱仕强¹, 许建峰⁴, 林瑞珠¹✉

(1.宁夏医科大学总医院康复医学科, 宁夏 银川 750004; 2.宁夏医科大学第一临床医学院, 宁夏 银川 750004; 3.宁夏医科大学第三临床医学院, 宁夏 银川 750004; 4.宁夏医科大学总医院中医骨伤科, 宁夏 银川 750004)

*通信作者 林瑞珠 (1979—), 女, 博士, 副教授, 主任医师, 博士生导师, 研究方向: 肌肉骨骼系统疾病康复。E-mail: linruizhu05@126.com

摘要 目的 从动物层面探讨体外冲击波疗法通过 ERK1/2 信号通路调控膝骨关节炎 (KOA) 兔软骨细胞自噬的作用机制。方法 采用随机数字表法将 40 只新西兰大白兔分为假手术组、模型组、冲击波 (ESWT) 组、抑制剂组, 每组 10 只。除假手术组外, 其他 3 组采用改良 Hulth 法建立 KOA 兔模型。造模结束后, ESWT 组予以体外冲击波治疗, 1 次/周, 共 4 周; 抑制剂组在每次体外冲击波治疗前, 向关节腔内注射 0.1 mL 的 100 μ mol/mL ERK1/2 信号通路抑制剂 U0126, 1 次/周, 共 4 周; 假手术组、模型组仅将实验兔在固定器上固定, 不予其他任何干预手段。干预 4 周后进行取材。采用改良版 Lequesne MG 量表评估各组实验兔干预前后行为学变化; X 射线评估膝关节影像学变化; 苏木精-伊红染色、番红 O-固绿染色观察软骨组织病理学变化; 透射电镜观察软骨细胞超微结构及自噬; RT-qPCR 检测各组软骨组织中 ERK1/2、ULK1、Beclin-1 mRNA 的表达; Western blot 检测各组软骨组织中 P-ERK1/2、ERK1/2、ULK1、Beclin-1 蛋白表达; 免疫组织化学染色观察 P-ERK1/2、ULK1 及 Beclin-1 在软骨组织中的原位表达与分布。结果 与假手术组相比, 模型组兔行为学评分降低, 关节影像学结构明显受损, 软骨退变严重, 软骨细胞内自噬小体减少, 软骨组织中 P-ERK1/2 蛋白以及自噬相关分子 ULK1、Beclin-1 的 mRNA 与蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$)。与模型组相比, ESWT 组 KOA 兔行为学评分及影像学表现均有所改善, 软骨表面相对光滑, 基质染色状况优于模型组, 软骨细胞内自噬小体增多, 软骨组织中 P-ERK1/2 蛋白以及自噬相关分子 ULK1、Beclin-1 的 mRNA 与蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$)。与 ESWT 组相比, 抑制剂组 KOA 兔行为学与影像学改善程度弱于 ESWT 组, 软骨损伤加重且自噬小体数量相应减少, 相应分子的蛋白与 mRNA 表达水平较 ESWT 组下调 ($P<0.05$)。结论 体外冲击波疗法通过介导 ERK1/2 信号通路调控 KOA 兔软骨细胞自噬, 进而发挥关节软骨保护作用, 延缓 KOA 的进展, 为该疗法的临床应用提供了实验依据。

关键词 体外冲击波疗法, 膝骨关节炎, ERK1/2 信号通路, 软骨细胞, 自噬

中图分类号 R684.3; R459.9; R318

文献标志码 A

Mechanism of extracorporeal shockwave therapy in regulating autophagy in chondrocytes of osteoarthritic rabbits via the ERK1/2 signaling pathway

WEN Bojun^{1,2}, WANG Zihao³, ZHU Shiqiang¹, XU Jianfeng⁴, LIN Ruizhu¹✉

(1. Rehabilitation Medicine Department, Ningxia Medical University General Hospital, Yinchuan 750004, China; 2. First Clinical College of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004; 3. Third Clinical College of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004; 4. Traditional Chinese Medicine and Orthopedics Department, Ningxia Medical University General Hospital, Yinchuan 750004)

收稿日期: 2026-03-02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82360987); 宁夏自然科学基金项目 (2025AAC030962)。

作者简介: 温博珺 (2001—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 肌肉骨骼系统疾病康复。E-mail: 908745487@qq.com

网络首发时间: 2026-05-15 14:45:56 网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/11.4822.R.20260515.0959.002>

Abstract Objective An investigation into the mechanism by which extracorporeal shock wave therapy modulates the ERK1/2 signalling pathway to regulate autophagy in rabbit chondrocytes with knee osteoarthritis (KOA), using an animal model. Methods Forty New Zealand White rabbits were randomly assigned using a pseudorandom number table to four groups: sham surgery, model, ESWT, and ERK1/2 signalling pathway inhibitor group (referred to as the inhibitor group), comprising ten rabbits each. Except for the sham surgery group, the other three groups underwent KOA modelling using the modified Hulth method. Following modelling, the ESWT group received extracorporeal shock wave therapy once weekly for four weeks. In the inhibitor group, before each in vitro shock wave treatment, 0.1 mL of 100 μ mol/mL ERK1/2 signaling pathway inhibitor U0126 was injected into the joint cavity once a week for a total of 4 weeks. The sham surgery and model groups were solely immobilised in restraints without any additional intervention. Tissue sampling was performed after 4 weeks of intervention. The modified Lequesne MG scale assessed behavioural changes before and after intervention in all groups; radiographs evaluated knee joint imaging changes; haematoxylin-eosin staining and Fuchsin-green staining examined cartilage histopathology; observation of the ultrastructure and autophagy of chondrocytes by transmission electron microscopy; Real-time quantitative PCR measured *ERK1/2*, *ULK1*, and *Beclin-1* mRNA expression in cartilage tissue across groups; Western blot analysed P-ERK1/2, ERK1/2, ULK1, and Beclin-1 protein expression in cartilage tissue; Immunohistochemical staining examined the in situ expression and distribution of P-ERK1/2, ULK1, and Beclin-1 within cartilage tissue. Results Compared with the sham-surgery group, rabbits in the model group exhibited lower behavioural scores, marked damage to joint radiographic structures, severe cartilage degeneration, a reduction in autophagosomes within chondrocytes, and significantly lower levels of P-ERK1/2 protein as well as mRNA and protein expression of the autophagy-related molecules ULK1 and Beclin-1 in cartilage tissue ($P < 0.05$). Compared with the model group, the ESWT group of KOA rabbits showed improvements in both behavioural scores and radiographic findings; the cartilage surface was relatively smooth, and the matrix staining was superior to that of the model group. There was an increase in autophagosomes within chondrocytes, and the mRNA and protein expression levels of P-ERK1/2, as well as the autophagy-related molecules ULK1 and Beclin-1, were significantly elevated in the cartilage tissue ($P < 0.05$). Compared with the ESWT group, the degree of behavioural and imaging improvement in the inhibitor group of KOA rabbits was weaker than that in the ESWT group; cartilage damage was exacerbated and the number of autophagosomes correspondingly decreased; the protein and mRNA expression levels of the relevant molecules were downregulated compared with the ESWT group ($P < 0.05$). Conclusions Extracorporeal shock wave therapy regulates autophagy in rabbit chondrocytes with knee osteoarthritis by modulating the ERK1/2 signalling pathway, thereby exerting a protective effect on articular cartilage and slowing the progression of KOA; this provides experimental evidence for the clinical application of this therapy.

Key words extracorporeal shock wave therapy, knee osteoarthritis, ERK1/2 signalling pathway, chondrocytes, autophagy

膝骨关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 是以关节软骨持续性退变丢失为核心病理表现的慢性疾病^[1-3]。患者早期症状多为活动后膝部不适, 随病情进展出现持续性疼痛, 部分中重度患者可发展为不可逆功能障碍甚至残疾, 严重影响独立生活能力^[4]。目前, KOA 软骨退变的机制尚不完全清晰, 软骨细胞自噬失调是导致软骨损伤的关键因素之一^[5,6]。相关研究证实, 适度激活自噬可清除因氧化应激积聚的受损线粒体, 抑制软骨细胞凋亡并减轻炎症反应, 进而延缓软骨退变的病理进程^[7-9]。因此, 深入探究软骨细胞自噬的分子调控机制, 对优化 KOA 治疗方案具有重要意义。

细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinases 1/2, ERK1/2) 信号通路是细胞感知外界机械刺激的关键介导者, 在调控细胞增殖、分化、自噬等生物学过程中扮演关键角色^[10]。ERK1/2 的磷酸化被认为是诱导自噬发生的上游关键信号, 其活化可参与调节自噬启动关键激酶 UNC-51 样激酶 1 (UNC-51 like autophagy activating kinase 1, ULK1) 的活性并促进 Beclin-1 自噬相关蛋白 (beclin-1, autophagy-related protein, Beclin-1) 的表达, 进而在介导细胞自噬过程中发挥作用^[11]。相关研究表明, 激活软骨细胞中的 ERK1/2 信号通路并提高下游自噬标志物的表达, 能够有效拮抗软骨细胞凋亡, 发挥软骨保护作用^[12]。体外冲击波疗法 (extracorporeal shock wave therapy, ESWT) 是一种物理治疗, 其具有操作无创, 定位精准, 治疗量可选择等优势, 在临床中常被用于治疗 KOA, 疗效显著^[13]。然而, 目前 ESWT 在临床推广中仍面临一定局限性, 例如治疗参数的选择多依赖经验、发挥软骨保护作用的微观细胞及分子机制尚不完全明确等, 这在一定程度上制约了 ESWT 靶向化治疗的发展。已有研究证实, ESWT 可通过调控 ERK1/2 的活性, 促进软骨细胞增殖和细胞外基质合成^[14]。基于 ERK1/2 信号通路在自噬调控及软骨细胞稳态中的重要作用, 本研究推测, ESWT 可能通过调控 ERK1/2 信号通路, 促进软骨细胞自噬, 进而发挥软骨保护效应。

为验证以上猜想, 本研究以 KOA 兔模型为研究对象, 采用 ESWT 进行干预治疗, 探究 ESWT 对

软骨细胞自噬的影响,并深入分析 ERK1/2 信号通路在该过程中的调控机制,以期 ESWT 治疗 KOA 的临床应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选择健康 6 月龄新西兰大白兔 40 只,雌雄各半,体质量 (2.0 ± 0.5) kg,购自陕西君行生物科技有限公司[SCXK(陕)2022-01]。所有动物均饲养于宁夏医科大学动物实验中心[SYXK(宁)2025-0001],每天自由摄取纯水和标准饲料饲养。饲养环境终年维持温度 $23 \sim 25^{\circ}\text{C}$,湿度 $55\% \sim 60\%$ 。本实验已通过宁夏医科大学实验动物福利伦理委员会批准(IACUC-NYLAC-2024-301),实验过程严格遵循动物实验 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染液、骨组织番红 O-固绿染液、逆转录试剂盒(货号:G1005、G1053、G3329-50)均购自武汉赛维尔生物科技有限公司;BCA 蛋白定量试剂盒(货号:E-BC-K318-M)购自武汉武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;磷酸化细胞外信号调节激酶 1/2(Phospho-ERK1/2, P-ERK1/2)抗体、ERK1/2 抗体、ULK1 抗体、Beclin-1 抗体(货号:28733-1-AP、51068-1-AP、20986-1-AP、11306-1-AP)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;ERK1/2 抑制剂 U0126(货号:HY-12031A)购自上海皓元生物医药科技有限公司。enPuls Version 2.0 体外冲击波治疗仪购自采曼医疗器械(上海)有限公司;SuPerMax 3500 型多功能酶标仪购自上海闪谱生物科技有限公司;HT7800 透射电子显微镜、TM4000 Plus II 光学显微镜均购自日本日立公司;T100 普通 PCR 仪、CFX96 Touch 荧光定量 PCR 仪均购自伯乐生命医学产品(上海)有限公司;Tanon 4600SF 超高灵敏度化学发光成像系统购自上海天能科技有限公司;EM UC7 超薄切片机购自德国徕卡显微系统有限公司;NanoDrop 2000 型超微量分光光度计购自美国赛默飞世尔科技公司。

1.3 实验方法。

1.3.1 动物模型建立

实验前喂养 7 d 以适应环境,经观察无异常后,按体质量由轻到重进行编号(1~40 号),采用随机数字表法将实验兔随机分为假手术组($n=10$),造模组($n=30$)。造模组采用改良 Hulth 造模方法制备兔 KOA 模型^[15]。随机选取 30 只新西兰兔,在兔耳缘静脉注射 3%戊巴比妥钠 1 mL/kg ,待麻醉状态稳定后,将兔固定于手术台上,左后肢膝关节局部脱毛、备皮,严格无菌操作,取左膝关节内侧进行纵切口,长约 4 cm,切断内侧副韧带,暴露关节腔,探查关节腔内无原发病变,切断前交叉韧带,切除内侧半月板,经抽屉实验、内侧应力实验证实各韧带完全切断后,缝合包扎。其中假手术组与造模组同样进行关节囊切开并打开关节腔,但不进行前交叉韧带的切断和半月板的剔除,其余步骤均保持一致。术后连续 3 d 肌肉注射青霉素钠(每天 20 万单位),伤口连续换药 7 d 预防感染。根据临床上 KOA 常出现超疲劳活动后加重的特点,手术 1 周后,每天分 2 次驱赶,强迫造模实验兔活动 30 min,4 周后拍摄造模实验兔的左后膝关节正位 X 射线片观察造模的情况,如果出现关节间隙变窄或消失、有骨刺或明显骨端变形为造模成功。造模成功后将造模组兔随机分为:模型组($n=10$)、冲击波(ESWT)组($n=10$)、抑制剂组($n=10$)。

1.3.2 分组治疗

假手术组、模型组:仅将实验兔在固定器上固定,不予其他任何干预手段。ESWT 组:采用 enPuls Version 2.0 型电磁弹道式体外冲击波治疗仪对实验兔左膝关节进行体外冲击波治疗。暴露实验兔左膝关节并涂抹适量耦合剂,将冲击波枪头垂直对准该部位,呈环绕式移动进行治疗。冲击波治疗所采用的参数设置为能流密度 0.1 mJ/mm^2 ,频率为 8 Hz,冲击次数 1 000 次^[16]。每周 1 次,干预 4 周。抑制剂组:在上述 ESWT 的基础上,每次治疗前对实验兔左膝关节腔注射 0.1 mL 的 $100 \mu\text{mol/mL}$ U0126^[17]。注射完成后被动屈伸兔膝关节数次并按摩关节腔,以促使药物在关节腔内均匀分

布。每周 1 次, 干预 4 周。

1.3.3 取材

各组实验兔经过 4 周的干预后, 采用耳缘静脉空气栓塞法处死。将其固定于操作台, 暴露左膝关节腔, 快速切取每只实验兔左后肢膝关节股骨内外侧髁处的新鲜软骨组织, 精确将关节软骨分离出来, 用 0.9% 氯化钠注射液冲洗。将一部分软骨组织放入 4% 多聚甲醛溶液中固定 48 h, 经系列梯度脱水后, 再用 10% EDTA 脱钙 1 个月, 最后进行石蜡包埋固定制成常规切片, 以备后续进行 HE 染色、番红 O-固绿染色及免疫组织化学检测。通过相同的取材步骤, 将一部分软骨组织放入电镜固定液中进行固定, 之后按照常规透射电镜样品制备工艺, 经过漂洗、锇酸固化、脱水、包埋并切片染色, 进行透射电镜检测。将剩余部分液氮冻存, 然后置于 -80℃ 冰箱中用于 RT-qPCR、Western blot 检测。

1.3.4 行为学评价

采用 Lequesne MG 评分评估每组实验兔干预前后行为学变化: 包括局部疼痛刺激反应 (0~3 分)、步态功能 (0~3 分)、关节活动 (0~3 分)、关节肿胀程度 (0~2 分), 4 部分评分相加 (共 11 分), 分数越高表示病变越严重^[18]。

1.3.5 膝关节影像学观察

每批实验兔在干预结束后, 在兔耳缘静脉注射 3% 戊巴比妥钠 1 mL/kg, 待麻醉状态稳定后拍摄各组实验兔左后肢膝关节 X 射线片。观察左后肢膝关节的宏观结构, 包括周围软组织、关节间隙、关节面变化及有无骨赘形成。

1.3.6 HE 染色、番红 O-固绿染色观察膝关节软骨组织形态结构

将已固定好的兔膝关节软骨组织样本经梯度乙醇溶液脱水、二甲苯处理、石蜡透蜡后, 包埋成蜡块。取石蜡包埋块用切片机作 5 μm 连续切片, 烤片。将一部分切片浸入苏木素染液 3~5 min, 自来水冲洗后经 1% 盐酸酒精分化, 再次自来水冲洗并以返蓝液返蓝, 流水充分冲洗。随后移入伊红染液 3~5 min, 染色后流水冲洗干净。将一部分切片进入骨组织固绿染液染色 5 min, 盐酸处理并清洗; 切片进入骨组织番红染液染色 1 min, 无水乙醇快速脱水, 切片经二甲苯透明后以中性树脂胶封片, 在显微镜下观察并拍照。并依据改良 Mankin's 评分标准对软骨结构完整程度 (0~5 分)、软骨细胞数量及分布情况 (0~3 分)、基质染色情况 (0~4 分) 和潮线完整性 (0~2 分) 进行评估。4 个部分总分 14 分, 改良 Mankin's 分值越高表明软骨组织损伤程度越严重^[19]。

1.3.7 透射电镜观察软骨细胞自噬

选取体积不超过 1 mm×1 mm×1 mm 的组织块迅速投入电镜固定液, 4℃ 固定 2~4 h, 再经漂洗、脱水后将丙酮与 812 包埋剂按 1:1 比例混合处理 2~4 h, 换用 1:2 比例混合液渗透过夜。将纯 812 包埋剂注入包埋板并插入样品, 37℃ 烤箱放置过夜后, 转入 60℃ 烤箱聚合 48 h 完成包埋。采用超薄切片机制备 60~80 nm 超薄切片, 经 2% 醋酸铀饱和酒精溶液与枸橼酸铅各染色 15 min 后, 置于室温过夜干燥。最后在透射电子显微镜下观察并采集图像进行分析。

1.3.8 RT-qPCR 检测

取冻存于 -80℃ 的软骨组织, 充分研磨后常规提取总 RNA, 采用 Nanodrop 2000 检测其浓度及纯度。按试剂盒说明书配制 20 μL 逆转录反应体系 (包含 5×SweScript SuperMix 4 μL , gDNA Remover 1 μL , Total RNA 10 μL 等), 于普通 PCR 仪完成逆转录, 程序设定为: 25℃、5 min, 42℃、30 min, 85℃、5 s。随后进行定量 PCR 扩增, 配制 15 μL 反应体系: 2×Universal Blue SYBR Green qPCR Master Mix 7.5 μL , 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 正、反向引物共 1.5 μL , cDNA 模板 2.0 μL , ddH₂O 4.0 μL 。于荧光定量 PCR 仪上进行扩增, 程序设定为: 95℃ 预变性 30 s; 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火延伸 30 s, 共进行 40 个循环; 扩增结束后进行熔解曲线分析。使用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法估算相对表达量。目的基因 ERK1/2、ULK1、Beclin-1 及内参 β -actin 相对应的引物, 由武汉赛维尔生物科技有限公司合成。引物序列见表 1。

表1 各基因引物序列
Table 1 Primer sequence

基因 Gene	引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'-3')	片段长度/bp Fragment length/bp
ERK1/2	F: GGGTATTCTTGGATCCCCTTCA	240
	R: TCACTCGGGTCGTAATACTGCT	
ULK1	F: TGCACAGCAAAGGCATCATC	120
	R: CGAACCCGAAGTCAGCAATCT	
Beclin-1	F: CACAGCTCCATTACTTGCCACAG	95
	R: GGCGAGTTTCAATAAATGCTTCC	
β -actin	F: CGCAAGTACTCGGTGTGGAT	94
	R: CCGACTCGTCATACTCCTGC	

1.3.9 Western blot 检测 ERK1/2 信号通路及自噬相关蛋白表达

取冻存的软骨组织，置入液氮中研磨后加入 RIPA 裂解液 15 min 后，12 000 r/min 高速离心机 4 ℃离心 10 min，取上清液，采用 BCA 蛋白定量试剂盒对总蛋白进行定量。将蛋白样品变性后，SDS-PAGE 1.5 h，再 300 mA 恒流转膜 1.5~2 h。用脱脂奶粉封闭 PVDF 膜后，分别加 ERK1/2(1：1 000)、P-ERK1/2(1：1 000)、ULK1(1：1 000)、Beclin-1(1：1 000)及内参 β -Actin 一抗（1：5 000）于 4 ℃孵育过夜，次日 PVDF 膜室温孵育二抗（1：5 000）2 h，用超敏发光浸湿 PVDF 膜，置于超高灵敏度化学发光成像系统中进行显影成像，最后采用 ImageJ 1.8.0 软件分析各泳道蛋白灰度值，选用 β -Actin 为内参蛋白分析各目标蛋白的表达水平。

1.3.10 免疫组织化学染色

石蜡切片经脱水、抗原修复后，将切片放入 3%双氧水溶液，室温避光孵育 25 min 以阻断内源性过氧化物酶活性，孵育结束后 PBS 洗涤；在组化圈内滴加 3%BSA 均匀覆盖组织进行血清封闭，室温封闭 30 min 后甩掉封闭液。向切片上滴提前稀释好的 P-ERK1/2 一抗（1：50）、ULK1 一抗（1：50）、Beclin-1 一抗（1：50），将切片平放于湿盒内，4 ℃孵育过夜。次日将切片置于 PBS 中洗涤 3 次，稍甩干后在组化圈内滴加二抗并确保覆盖组织，室温孵育 50 min。孵育完成后再次重复 PBS 洗涤步骤，切片稍甩干后滴加新鲜配制的 DAB 显色液，在光学显微镜下实时观察控制显色时间，待阳性信号呈棕黄色时，用自来水冲洗终止显色。接着用苏木素对细胞核复染 3 min 左右，自来水冲洗后经苏木素分化液分化数秒，再次自来水冲洗，随后用苏木素返蓝液返蓝，流水充分冲洗。复染后的切片经梯度脱水后，用中性树脂胶封片。将切片置于显微镜下进行图像采集。采用 ImageJ 1.8.0 软件对图片累积的光密度值进行分析，再将此数值与蛋白分布区域的面积相除，所得结果即为平均光密度值。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 27.0 统计软件进行统计学分析。实验结果以平均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组间差异比较前先行正态性检验及方差齐性检验。若数据符合正态分布且方差齐，多组间比较采用单因素方差分析,进一步的两两比较采用 LSD 检验，若方差不齐则采用 Tamhane's T2 检验。以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

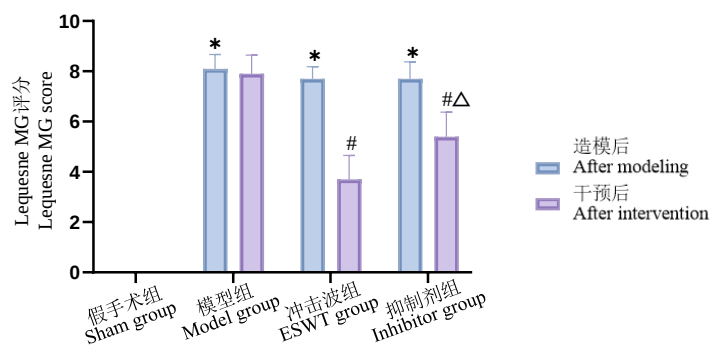
2.1 实验动物数量分析

本研究选用 40 只新西兰大白兔，随机分配至 4 个不同处理组，每组 10 只。在整个研究周期内，所有实验动物均保持稳定状态，未出现样本脱落情况，最终全部数据均参与统计分析。

2.2 各组兔膝关节 Lequesne MG 评分比较

实验动物模型构建成功后，与假手术组比较，模型组、ESWT 组、抑制剂组兔 Lequesne MG 评分均明显增加($P<0.05$)，3 组间评分无明显差异 ($P>0.05$)。在完成相应干预措施后，统计分析显示，相较于假手术组，模型组兔 Lequesne MG 评分仍保持较高水平 ($P<0.05$)；而与模型组相比，ESWT

组、抑制剂组兔评分明显下降($P<0.05$)；与 ESWT 组相比，抑制剂组评分升高 ($P<0.05$)。见图 1。



注：与假手术组相比，* $P<0.05$ ；与模型组相比，# $P<0.05$ ；与冲击波组相比， $^{\Delta}P<0.05$ 。

图 1 各组兔膝关节 Lequesne MG 评分

Note. Compared with the sham operation group, * $P<0.05$. Compared with the model group, # $P<0.05$. Compared with the ESWT group, $^{\Delta}P<0.05$.

Figure 1 Lequesne MG scores of the knee joints of each group of rabbits

2.3 各组兔左膝关节影像学 X 射线片结果的比较

假手术组兔膝关节间隙正常，关节表面光滑，无外周骨赘形成。模型组兔膝关节间隙较假手术组变窄，软骨下骨骨质密度增高，关节面边界不规则并伴有周围骨质增生。与模型组相比，ESWT 组、抑制剂组均表现出相应程度的改善：包括膝关节间隙增宽、关节软骨边界更为清晰、骨赘数量减少等。与 ESWT 组相比，抑制剂组骨性结构的改善程度下降。见图 2。

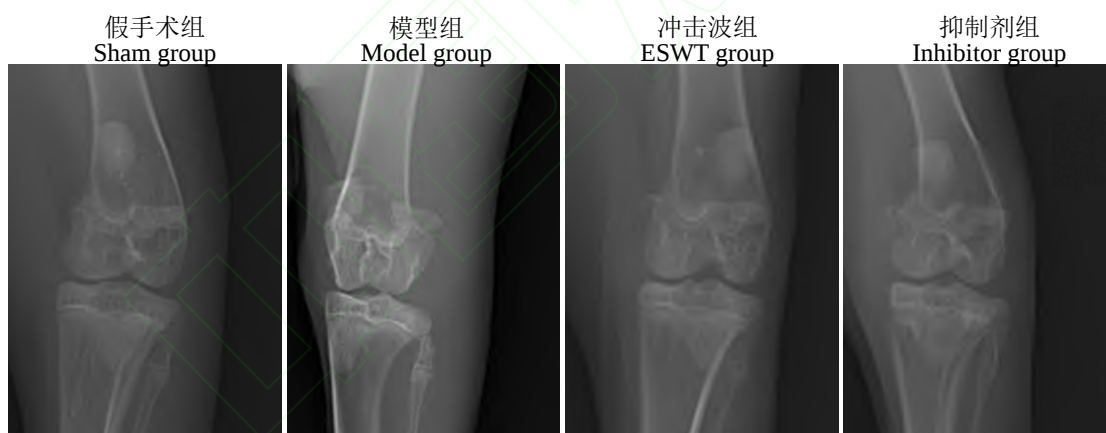
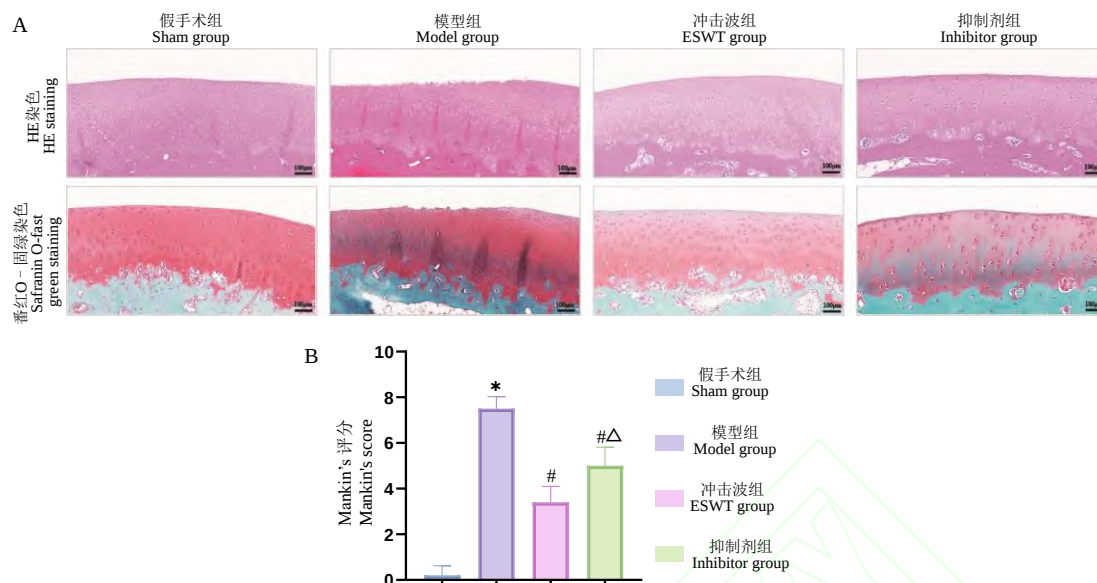


图 2 各组兔左膝关节 X 射线表现

Figure 2 X-ray findings of left knee in all experimental rabbit groups

2.4 各组兔膝关节软骨组织病理学染色比较

假手术组兔关节组织结构清晰，软骨表面平整无缺损，软骨细胞数量丰富排列规则，潮线边界清晰。相比之下，模型组兔膝关节软骨呈现明显的病理改变，关节组织软骨表面不光滑，出现小范围软骨缺损，软骨细胞减少且排列不规则，软骨基质染色不均匀，潮线结构模糊。与模型组相比，ESWT 组、抑制剂组兔软骨组织形态均有所改善，软骨厚度及软骨细胞数量有所增加，软骨细胞排列相对规则，软骨基质失染减少，基质染色较为均匀，潮线更为清晰。与 ESWT 组相比，抑制剂组上述病理损伤改善程度下降。各组实验兔 Mankin's 评分比较：与假手术组比较，模型组兔 Mankin's 评分明显增高($P<0.05$)；与模型组比较，ESWT 组、抑制剂组兔 Mankin's 评分显著下降($P<0.05$)；与 ESWT 组相比，抑制剂组 Mankin's 评分升高 ($P<0.05$)。见图 3。



注：A：各组兔软骨组织病理学染色(200×)；B：各组兔膝关节病理学 Mankin's 评分；与假手术组相比，* $P<0.05$ ；与模型组相比，# $P<0.05$ ；与冲击波组相比，Δ $P<0.05$ 。

图 3 各组兔软骨组织病理形态及 Mankin's 评分结果

Note. A, Histopathological staining of rabbit cartilage tissue in each group (200×). B, Mankin's score of rabbit knee joint in each group. Compared with the sham operation group, * $P<0.05$. Compared with the model group, # $P<0.05$. Compared with the ESWT group, Δ $P<0.05$.

Figure 3 Pathological morphology and Mankin's score of cartilage in experimental rabbits

2.5 各组兔软骨细胞自噬的比较

假手术组软骨细胞中细胞膜完整，线粒体、粗面内质网、高尔基体结构正常，数量丰富。自噬溶酶体数量相对较多。模型组软骨细胞损伤严重，细胞膜大面积崩解细胞器结构模糊，大量空泡，细胞质浓缩，线粒体数量较少，明显固缩、变小，线粒体嵴断裂或消失。粗面内质网排列紊乱、局部明显扩张。自噬溶酶体个别存在。ESWT 组软骨细胞呈轻微损伤改变，细胞膜完整，胞内细胞器轻度肿胀，聚集。染色质相对均匀。线粒体大多结构尚可，膜完整，基质均匀，嵴存在。粗面内质网大多未见明显扩张，表面可见核糖体附着。自噬溶酶体数量有所增加。抑制剂组软骨细胞呈中度损伤改变，明显固缩。胞内细胞器模糊，大量空泡，细胞核固缩，染色质大面积凝集。线粒体数量较少，明显肿胀。高尔基体肥大，囊膜扩张。自噬溶酶体少量存在。见图 4。

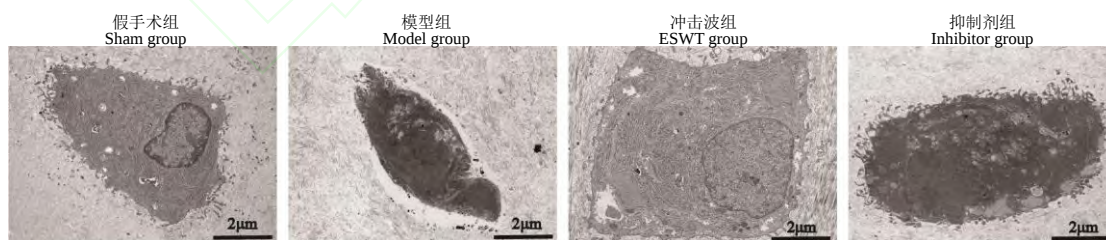
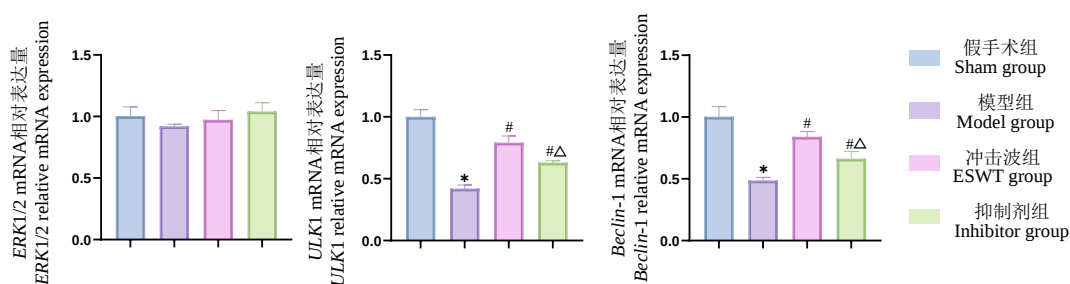


图 4 各组兔软骨细胞透射电镜图

Figure 4 Transmission electron micrographs of rabbit chondrocytes in each group

2.6 各组实验兔软骨组织 RT-qPCR 检测结果比较

假手术组、模型组、ESWT 组、抑制剂组兔软骨组织中 *ERK1/2* mRNA 表达差异无统计学意义 ($P>0.05$)；与假手术组比较,模型组兔软骨组织中 *ULK1*、*Beclin-1* mRNA 表达显著降低($P<0.05$)；与模型组比较，ESWT 组、抑制剂组兔软骨组织中 *ULK1*、*Beclin-1* mRNA 表达显著升高($P<0.05$)；与 ESWT 组比较，抑制剂组兔软骨组织中 *ULK1*、*Beclin-1* mRNA 表达降低($P<0.05$)。见图 5。



注：与假手术组相比，* $P<0.05$ ；与模型组相比，# $P<0.05$ ；与冲击波组相比， $\Delta P<0.05$ 。

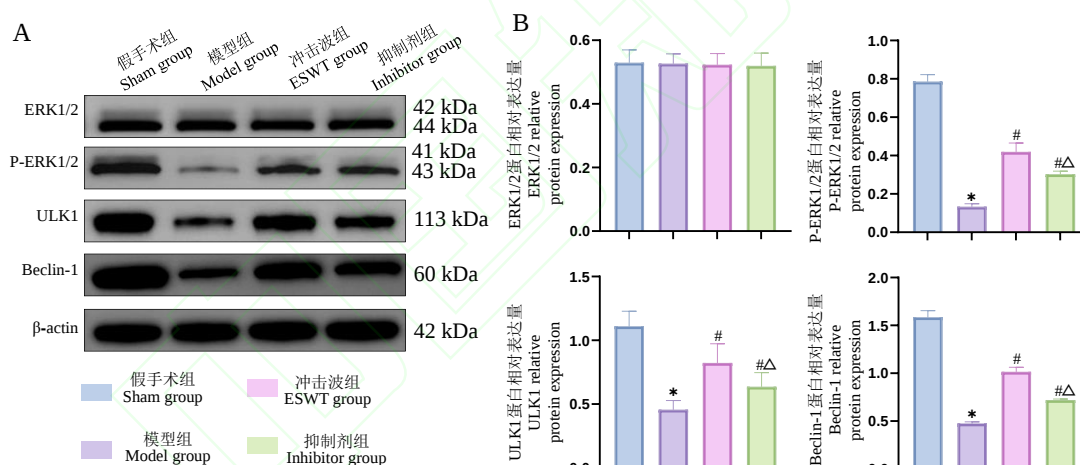
图5 各组兔软骨组织中 ERK1/2、ULK1、Beclin-1 mRNA 相对表达量

Note. Compared with the sham operation group, * $P<0.05$. Compared with the model group, # $P<0.05$. Compared with the ESWT group, $\Delta P<0.05$.

Figure 5 Relative mRNA expression of ERK1/2, ULK1, Beclin-1 in rabbit cartilage among groups

2.7 各组实验兔软骨组织 Western blot 检测结果比较

假手术组、模型组、ESWT 组、抑制剂组兔软骨组织中 ERK1/2 蛋白表达差异无统计学意义 ($P>0.05$)；与假手术组比较，模型组兔软骨组织中 P-ERK1/2、ULK1、Beclin-1 蛋白表达明显降低 ($P<0.05$)；与模型组相比，ESWT 组、抑制剂组兔软骨组织中 P-ERK1/2、ULK1、Beclin-1 蛋白表达明显升高 ($P<0.05$)；与 ESWT 组相比，抑制剂组兔软骨组织中 P-ERK1/2、ULK1、Beclin-1 蛋白表达降低 ($P<0.05$)。见图 6。



注：A：各组兔软骨组织 ERK1/2、P-ERK1/2、ULK1、Beclin-1 蛋白表达条带；B：各组兔软骨组织 ERK1/2、P-ERK1/2、ULK1、Beclin-1 蛋白相对表达水平；与假手术组相比，* $P<0.05$ ；与模型组相比，# $P<0.05$ ；与冲击波组相比， $\Delta P<0.05$ 。

图6 各组兔软骨组织中 ERK1/2、P-ERK1/2、ULK1、Beclin-1 蛋白表达条带及相对表达水平

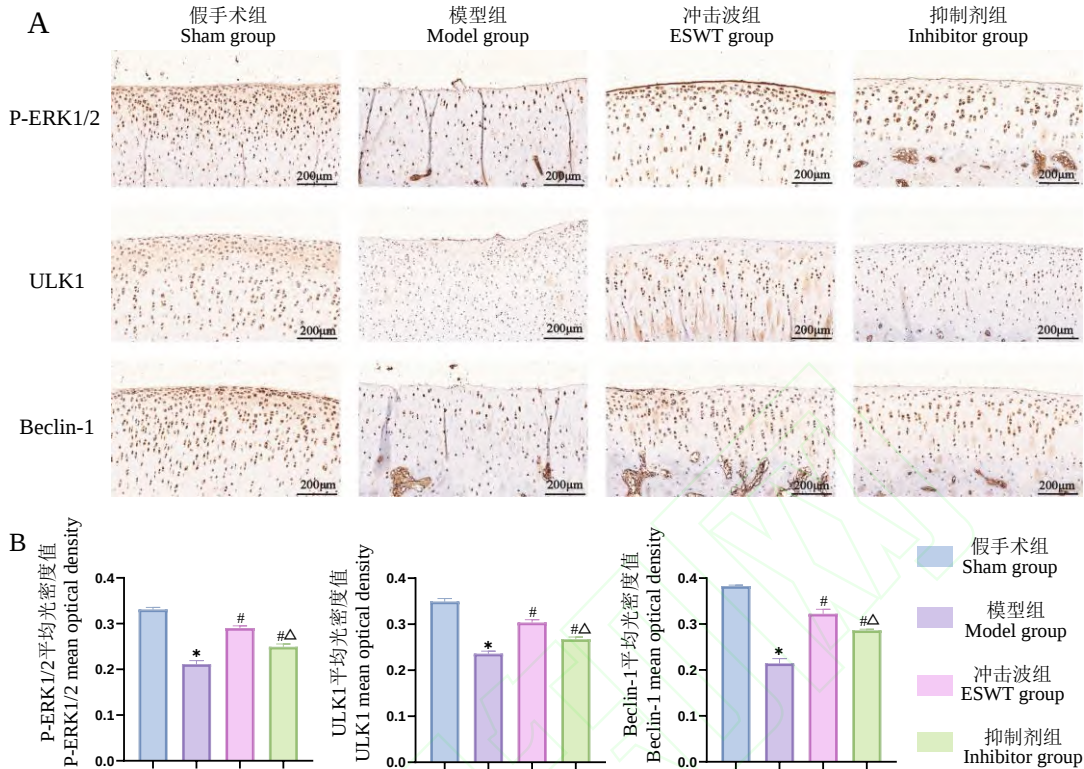
Note. A, Protein bands of ERK1/2, P-ERK1/2, ULK1, Beclin-1 in rabbit cartilage tissues of each group. B, Relative protein expression levels of the above factors. Compared with the sham operation group, * $P<0.05$. Compared with the model group, # $P<0.05$. Compared with the ESWT group, $\Delta P<0.05$.

Figure 6 Protein bands and relative expression levels of ERK1/2, P-ERK1/2, ULK1 and Beclin-1 in cartilage tissues of rabbits in each group

2.8 各组实验兔软骨组织免疫组织化学染色结果比较

结果显示，P-ERK1/2、ULK1、Beclin-1 阳性表达均呈棕褐色颗粒，主要定位于软骨细胞的细胞质中。与假手术组相比，模型组兔软骨组织中 P-ERK1/2、ULK1、Beclin-1 阳性蛋白表达量明显减少，平均光密度值显著降低 ($P<0.05$)；与模型组相比，ESWT 组、抑制剂组兔软骨组织中 P-ERK1/2、ULK1、Beclin-1 阳性蛋白表达量明显增加，平均光密度值显著升高 ($P<0.05$)；与 ESWT 组相比，抑制剂组兔软骨组织中 P-ERK1/2、ULK1、Beclin-1 阳性蛋白表达量有所减少，平均光密度值降低

($P<0.05$)。见图 7。



注：A：各组兔软骨组织免疫组织化学染色(200×)；B：各组兔软骨组织阳性蛋白表达定量分析；与假手术组相比，* $P<0.05$ ；与模型组相比，# $P<0.05$ ；与冲击波组相比，Δ $P<0.05$ 。

图 7 各组兔软骨组织免疫组织化学染色及阳性蛋白表达定量分析

Note. A, Immunohistochemical staining of rabbit cartilage tissues in each group (200×); B, Quantitative analysis of positive protein expression in rabbit cartilage tissues of each group. Compared with the sham operation group, * $P<0.05$. Compared with the model group, # $P<0.05$. Compared with the ESWT group, Δ $P<0.05$.

Figure 7 Immunohistochemical staining and quantitative analysis of positive protein expression in rabbit cartilage tissues of each group

3 讨论

KOA 是一种严重影响患者生活质量的慢性退行性关节疾病，其主要病理特征表现为关节软骨的进行性退变、软骨下骨硬化以及滑膜炎[20]。尽管全膝关节置换术是终末期 KOA 的有效治疗手段，但在疾病早中期，如何有效延缓软骨退变进程仍是当前研究的重点。近年来，ESWT 作为一种非侵入性的干预手段，因其显著的镇痛效应和组织修复潜力，被广泛应用于 KOA 的临床治疗[21]。现有的临床证据及基础研究表明，ESWT 能够通过改善软骨下骨微结构、抑制炎症因子释放等多途径发挥软骨保护作用[22-24]。然而，ESWT 产生的瞬时高压与空化效应作为一种物理机械刺激，其如何转化为细胞内生物化学信号并调控软骨细胞命运，目前尚未完全阐明。

本研究从宏观行为学、影像学及微观组织病理形态学多维度证实了 ESWT 的软骨保护作用。结果表明，ESWT 显著改善了 KOA 兔的关节肿胀与运动功能，有效减轻了其关节间隙狭窄、骨赘增生及软骨表面的粗糙与缺损。这一表型层面的改善进一步印证了既往研究的观点，即 ESWT 的物理机械作用能够有效缓解关节炎症疼痛并恢复局部运动力学特征[25]；同时，本研究在微观结构上观察到的软骨保护效应，也与邓紫婷等[26]、HUANG 等[27]的研究结果相一致，其背后机制可能与 ESWT 产生的机械应力刺激了软骨细胞的合成代谢，从而促进了受损组织的自我修复有关[28]。值得注意的是，当我们引入 ERK1/2 抑制剂 U0126 后，ESWT 对 KOA 兔宏观运动功能及软骨组织形态的保护作用被显著削弱。这种表型层面的逆转初步提示，ESWT 产生的机械应力并非仅仅引起非特异性的物理改变，而是

依赖于特定的“力-化学信号转导”途径，其中 ERK1/2 通路可能是其发挥组织修复功能的关键环节之一。

在 KOA 的病理进程中，细胞自噬并非维持在恒定水平，而是呈现出阶段性的动态变化^[29]。在 KOA 早期，软骨细胞为抵御异常应激，会激活内源性适应性应答，表现为 ULK1 和 Beclin-1 等表达显著上调，以维持软骨细胞代谢平衡^[30,31]。然而，随着病程进展，软骨细胞的自噬系统逐渐由“代偿”转向“失代偿”^[32,33]。自噬流受阻使得受损细胞器如线粒体无法被及时降解与清除，进而加剧了细胞的代谢紊乱与退行性变^[34-36]。这提示，恢复受损的自噬活性是延缓 KOA 进程的关键。本研究透射电镜结果印证了这一病理过程：模型组软骨细胞内极少观察到自噬小体，且伴随线粒体严重肿胀、空泡化及嵴断裂。这一现象与卢曼等^[37]研究结果相一致，证实 KOA 状态下软骨细胞清除受损细胞器的能力显著受抑制。经 ESWT 干预后，细胞内自噬小体数量明显增加，线粒体超微结构损伤显著减轻。这与 MAO 等^[38]的研究结果相呼应，提供了 ESWT 能够有效恢复软骨细胞自噬活性、促进受损细胞器代谢的直接证据。值得注意的是，在引入 U0126 后，尽管给予同等剂量的冲击波刺激，我们在电镜下观察到自噬小体数量大幅减少，线粒体再度呈现类似模型组的严重损伤特征。这一超微结构层面的逆转现象进一步提示，ESWT 诱导软骨细胞自噬小体形成并恢复自噬流的过程并非单纯的物理机械效应，而是高度依赖于特定信号通路的传导。

为了深入阐明 ESWT 调控软骨细胞自噬的分子机制，本研究从基因转录、蛋白翻译及组织原位分布 3 个层面进行了系统检测。研究结果揭示了一个关键发现：各组之间 ERK1/2 的总转录与翻译水平并无显著差异，但 ESWT 干预后其活性形式的表达显著升高。这一结果明确提示，ESWT 并非依赖于增加 ERK1/2 分子的合成，而是通过改变其生物活性状态来发挥调控作用。从力学生物学角度推测，ESWT 产生的物理机械刺激可能激活了软骨细胞膜上的机械敏感离子通道^[39]，进而将物理信号转化为化学信号，诱发了细胞内 ERK1/2 的磷酸化级联反应。

伴随 P-ERK1/2 的显著活化，本研究检测发现，自噬相关分子 ULK1、Beclin-1 的 mRNA 相对表达量、总蛋白水平及其在软骨组织原位的阳性分布均呈现出一致的上调趋势。这提示，激活后的 P-ERK1/2 可能通过核转位调控相关转录因子，进而促进了下游自噬相关基因的转录与功能蛋白的翻译。为进一步明确 ERK1/2 信号通路在 ESWT 诱导软骨细胞自噬中的调控作用，本研究引入了 U0126。结果显示，当 ERK1/2 的磷酸化被阻断后，其上调 ULK1 和 Beclin-1 表达的作用受到显著抑制，细胞自噬水平相应下降。这一结果从分子层面进一步提示，ERK1/2 通路的活化是 ESWT 促进软骨细胞自噬的关键上游环节。

然而尽管 U0126 显著抑制了 ESWT 的促自噬效应，但抑制剂组的 ULK1 及 Beclin-1 表达水平仍高于模型组。这一结果提示，ERK1/2 信号通路虽然在 ESWT 调节自噬中发挥关键作用，但并非唯一的调控路径。结合现有文献研究，我们分析认为，原因可能存在于以下两个方面：首先，ESWT 作为一种物理能量刺激，可能具有多靶点效应，近年来多项针对 KOA 的研究表明，除了 ERK1/2 信号通路外，软骨细胞中其他信号通路（如 AMPK 信号通路、PI3K/AKT/mTOR 信号通路）同样参与了自噬的调控^[40,41]，ESWT 可能通过激活此类平行途径产生了代偿性或协同性的促自噬作用；其次，ESWT 可改善软骨的炎症微环境^[42]，有助于维持细胞正常代谢功能，使得部分自噬活性得以保留，而这种基础功能的恢复独立于 ERK1/2 信号通路之外。这一现象进一步揭示了 ESWT 生物学效应的复杂性与稳健性。相较于单一靶点的药物干预，ESWT 通过以 ERK1/2 为主的多通路协同调控，能够更有效地激活软骨细胞的自我保护机制。这一发现不仅强化了 ERK1/2 作为 ESWT 治疗 KOA 关键靶点的地位，也为未来探索 ESWT 联合其他通路的增效方案提供了新的思路。

然而，受限于现阶段的实验条件与活体模型特征，本研究尚存一定局限性：一是体内实验难以完全排除关节腔复杂微环境（如滑膜、软骨下骨）的潜在干扰；二是机制探讨主要依赖抑制剂，尚缺基于基因敲低或过表达技术的精准靶点验证及体外细胞干预的直接证据。尽管存在上述局限性，本研究仍初步阐明了 ESWT 发挥软骨保护作用的潜在分子机制，为该疗法在临床的应用提供了理论依据。未来课题组将结合上述技术开展原代软骨细胞的 ESWT 实验，以进一步阐释其调控机制。

综上所述, 本研究发现 ESWT 能够激活 ERK1/2 信号通路, 进而上调 ULK1 和 Beclin-1 的蛋白表达, 通过提高软骨细胞的自噬水平, 有效延缓 KOA 的软骨退变。

参考文献

- [1] GELBER A C. Knee osteoarthritis [J]. *Ann Intern Med*, 2024, 177(9): ITC129-ITC144.
- [2] JIANG W, CHEN H, LIN Y, et al. Mechanical stress abnormalities promote chondrocyte senescence – The pathogenesis of knee osteoarthritis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 167: 115552.
- [3] DU X, LIU Z, TAO X, et al. Research progress on the pathogenesis of knee osteoarthritis [J]. *Orthop Surg*, 2023, 15(9): 2213-2224.
- [4] LANGWORTHY M, DASA V, SPITZER A I. Knee osteoarthritis: disease burden, available treatments, and emerging options [J]. *Ther Adv Musculoskeletal Dis*, 2024, 16: 1759720X241273009.
- [5] LI L, LI J, LI J J, et al. Chondrocyte autophagy mechanism and therapeutic prospects in osteoarthritis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2024, 12: 1472613.
- [6] BROCKMUELLER A, BUHRMANN C, SHAYAN P, et al. Cabelin A modulates inflammatory and autophagy signals for the prevention and treatment of osteoarthritis [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1363947.
- [7] GUAN M, YU Q, ZHOU G, et al. Mechanisms of chondrocyte cell death in osteoarthritis: implications for disease progression and treatment [J]. *J Orthop Surg Res*, 2024, 19(1): 550.
- [8] 童洁, 廖瑛, 陈政宇, 等. 骨关节炎软骨细胞自噬及丝裂原活化蛋白激酶信号通路的调控 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(20): 3246-3251.
- [9] TONG J, LIAO Y, CHEN Z Y, et al. Osteoarthritic chondrocyte autophagy and regulation of mitogen-activated protein kinase signaling pathway [J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2021, 25(20): 3246-3251.
- [10] 贾小飞, 冉丽, 马小双, 等. 针刀调控软骨细胞自噬维持骨关节炎软骨细胞的稳态 [J]. *中国组织工程研究*, 2024, 28(34): 5452-5457.
- [11] JIA X F, RAN L, MA X S, et al. Regulation of chondrocyte autophagy by acupotomy to promote chondrocyte homeostasis in osteoarthritis [J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2024, 28(34): 5452-5457.
- [12] FAN Q, ZHAO M, ZHANG X D, et al. Research progress and prospect of MAPK signaling pathway in knee osteoarthritis [J]. *Eur J Orthop Surg Traumatol*, 2025, 35(1): 134.
- [13] MA S, WU Q, WU W, et al. Urolithin A hijacks ERK1/2-ULK1 cascade to improve CD8+ T cell fitness for antitumor immunity [J]. *Adv Sci*, 2024, 11(18): 2310065.
- [14] HONG G. Enoxolone suppresses apoptosis in chondrocytes and progression of osteoarthritis via modulating the ERK1/2 signaling pathway [J]. *Arch Med Sci*, 2024, 20(3): 947-961.
- [15] 陈鑫, 宁旭, 孙锦波. 体外冲击波治疗膝关节炎的研究现状 [J]. *生物骨科材料与临床研究*, 2025, 22(6): 73-77.
- [16] CHEN X, NING X, SUN J B. The current research status of extracorporeal shock wave therapy for knee osteoarthritis [J]. *Orthop Biomech Mater Clin Stud*, 2025, 22(6): 73-77.
- [17] SHEN P C, CHOU S H, LU C C, et al. Shockwave treatment enhanced extracellular matrix production in articular chondrocytes through activation of the ROS/MAPK/Nrf2 signaling pathway [J]. *Cartilage*, 2021, 13(2_suppl): 238S-253S.
- [18] 叶劲松, 梁子聪. 3 种不同膝骨关节炎造模方法比较 [J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(16): 3948-3954.
- [19] YE J S, LIANG Z C. Comparison of three different modeling methods of knee osteoarthritis [J]. *Chin J Gerontol*, 2023, 43(16): 3948-3954.
- [20] 于强, 段志远, 吴健, 等. 体外冲击波联合玻璃酸钠对兔膝关节软骨修复的影响及机制 [J]. *解剖科学进展*, 2021, 27(4): 401-404.
- [21] YU Q, DUAN Z Y, WU J, et al. Effect of extracorporeal shock wave combined with sodium hyaluronate on cartilage repair of rabbit knee osteoarthritis and its mechanism [J]. *Prog Anat Sci*, 2021, 27(4): 401-404.
- [22] 17] 师婕, 张钰, 许秀峰, 等. 探究早期兔膝关节炎中 ERK 信号通路对细胞自噬的作用 [J]. *中国康复*, 2020, 35(1): 3-6.
- [23] SHI J, ZHANG Y, XU X F, et al. Effect of ERK inhibitor on autophagy at the early stage of osteoarthritis in rabbits [J]. *Chin J Rehabil*, 2020, 35(1): 3-6.
- [24] FU Y, ZHANG C, YANG Y, et al. Effect of umbilical cord blood-mononuclear cells on knee osteoarthritis in rabbits [J]. *J Orthop Surg Res*, 2024, 19(1): 323.
- [25] 黄复荣, 周君, 孙光华, 等. 电针对老年大鼠关节软骨及软骨下骨极化相关蛋白表达的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2023, 39(12): 1473-1479.
- [26] HUANG X R, ZHOU J, SUN G H, et al. Effect of electroacupuncture on articular cartilage and subchondral polarization-related protein expression in aged rats [J]. *J Pract Med*, 2023, 39(12): 1473-1479.
- [27] SHARMA L. Osteoarthritis of the knee [J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(1): 51-59.
- [28] SILVA A C, ALMEIDA V S, VERAS P M, et al. Effect of extracorporeal shock wave therapy on pain and function in patients with knee osteoarthritis: a systematic review with meta-analysis and grade recommendations [J]. *Clin Rehabil*, 2023, 37(6): 760-773.
- [29] NAKASATO S, ASO K, MITSUOKA T, et al. Therapeutic strategy for knee osteoarthritis with subchondral bone lesions: combination therapy of extracorporeal shockwave therapy and regenerative medicine [J]. *Appl Sci*, 2025, 15(21): 11661.
- [30] 杨兴月, 黄圆月, 安松松, 等. 体外冲击波疗法对膝关节炎大鼠滑膜和软骨组织炎症因子的影响及机制 [J]. *贵州医科大学学报*, 2024, 49(1): 48-55.
- [31] YANG X Y, HUANG Y Y, AN S S, et al. Effect and mechanism of extracorporeal shock wave therapy on inflammatory factors in synovium and cartilage in rats with knee osteoarthritis [J]. *J Guizhou Med Univ*, 2024, 49(1): 48-55.
- [32] KHADOUR F A, KHADOUR Y A, KHOULY O I, et al. Combined low-intensity pulsed ultrasound and extracorporeal shock wave therapy reduces pain and inflammation in knee osteoarthritis patients [J]. *Sci Rep*, 2026, 16: 1221.
- [33] RHIM H C, SHIN J, KANG J, et al. Use of extracorporeal shockwave therapies for athletes and physically active individuals: a systematic review [J]. *Br J Sports Med*, 2024, 58(3): 154-163.
- [34] 邓紫婷, 文丽, 贾英. 体外冲击波对兔膝关节软骨组织中转化生长因子 $\beta 1$ 和白介素 1β 表达的影响 [J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2022, 44(1): 18-24.
- [35] DENG Z T, WEN L, JIA Y. The effects of extracorporeal shock wave treatment on the expression of TGF- $\beta 1$ and IL- 1β in the cartilage of an

- osteoarthritic knee [J]. *Chin J Phys Med Rehabil*, 2022, 44(1): 18-24.
- [27] HUANG M, SHAO H, ZHANG S, et al. Single-dose radial extracorporeal shock wave therapy modulates inflammation during meniscal tear healing in the avascular zone [J]. *Am J Sports Med*, 2024, 52(3): 710-720.
- [28] ZHAO Z, WANG Y, WANG Q, et al. Radial extracorporeal shockwave promotes subchondral bone stem/progenitor cell self-renewal by activating YAP/TAZ and facilitates cartilage repair in vivo [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 19.
- [29] ZHANG S L, ZHANG K S, WANG J F, et al. Corresponding changes of autophagy-related genes and proteins in different stages of knee osteoarthritis: an animal model study [J]. *Orthop Surg*, 2022, 14(3): 595-604.
- [30] 柴居堂, 杨倩, 宁红霞, 等. 中药干预细胞自噬防治骨关节炎研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(2): 287-298.
- CHAI J T, YANG Q, NING H X, et al. Traditional Chinese medicine regulates autophagy to prevent and treat osteoarthritis: a review [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*, 2024, 30(2): 287-298.
- [31] 孙明帅, 范重山, 李凯杰, 等. 骨关节炎中软骨细胞自噬的作用及其靶向治疗 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(35): 5688-5693.
- SUN M S, FAN C S, LI K J, et al. Role of chondrocyte autophagy in osteoarthritis and its targeted therapy [J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2021, 25(35): 5688-5693.
- [32] 李蔚然, 杨琪琪, 周欣华, 等. 针刀调控 AMPK/ULK1 通路促进膝关节骨关节炎大鼠软骨细胞自噬 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2025, 45(10): 1215-1221.
- LI (W /Y)R, YANG Q Q, ZHOU X H, et al. Needle knife improves chondrocyte autophagy in knee osteoarthritis rats via regulating AMPK/ULK1 pathway [J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 2025, 45(10): 1215-1221.
- [33] LU M, MENG D H, SHE Z Y, et al. Promotion and mechanism of acupotomy on chondrocyte autophagy in knee osteoarthritis rabbits [J]. *Chin J Integr Med*, 2024, 30(9): 809-817.
- [34] HUANG J, WU L, ZHAO Y, et al. Programmed cell death of chondrocytes, synovial cells, osteoclasts, and subchondral bone cells in osteoarthritis [J]. *J Inflamm Res*, 2025, 18: 12323-12360.
- [35] 王浩, 陈群超, 殷丽丽. 自噬在骨关节炎软骨细胞退变中表达的研究 [J]. *风湿病与关节炎*, 2021, 10(4): 1-4, 31.
- WANG H, CHEN Q C, YIN L L. Study on the expression of autophagy in osteoarthritis chondrocyte degeneration [J]. *Rheum Arthritis*, 2021, 10(4): 1-4, 31.
- [36] 马运锋, 曹玉净, 韩小飞. 羽扇豆醇通过 SIRT3/mTOR 通路调节自噬以改善骨关节炎软骨细胞衰老 [J]. *四川大学学报 (医学版)*, 2025, 56(1): 83-93.
- MA Y F, CAO Y J, HAN X F. Lupeol alleviates chondrocytes senescence in osteoarthritis by regulating autophagy via the sirtuin 3/mechanistic target of rapamycin kinase pathway [J]. *J Sichuan Univ Med Sci*, 2025, 56(1): 83-93.
- [37] 卢曼, 黄小双, 孟德鸿, 等. 针刀对膝关节骨关节炎大鼠 mTOR/Atg/ULK1/Beclin-1 轴及软骨细胞自噬的影响 [J]. *中国针灸*, 2022, 42(1): 59-65.
- LU M, HUANG X S, MENG D H, et al. Effect of needle knife on mTOR/Atg/ULK1/Beclin-1 axis and chondrocyte autophagy in rats with knee osteoarthritis [J]. *Chin Acupunct Moxibustion*, 2022, 42(1): 59-65.
- [38] MAO J, ZHANG J N, ZHANG Q B, et al. Extracorporeal shock wave and melatonin alleviate joint capsule fibrosis after knee trauma in rats by regulating autophagy [J]. *Curr Mol Med*, 2025, 25(2): 222-236.
- [39] ZHANG M, MENG N, WANG X, et al. TRPV4 and PIEZO channels mediate the mechanosensing of chondrocytes to the biomechanical microenvironment [J]. *Membranes*, 2022, 12(2): 237.
- [40] 杨瑜, 吴洁, 高晓. 高良姜素调节 SIRT1/AMPK/mTOR 信号通路对脂多糖诱导的大鼠关节软骨细胞自噬和凋亡的影响 [J]. *中药新药与临床药理*, 2024, 35(9): 1299-1305.
- YANG Y, WU J, GAO X. Effects of galangin on LPS-induced autophagy and apoptosis of rat articular chondrocytes by regulating the SIRT1/AMPK/mTOR signaling pathway [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol*, 2024, 35(9): 1299-1305.
- [41] CHEN W, ZHANG H. Elucidating the mechanism of IL-1 β -Mediated Piezo1 expression regulation of chondrocyte autophagy and apoptosis via the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [J]. *Tissue Cell*, 2024, 86: 102291.
- [42] 朱鹏飞, 李松, 熊艳文. 体外冲击波治疗膝骨关节炎的研究进展 [J]. *中外医学研究*, 2025, 23(7): 154-159.
- ZHU P F, LI S, XIONG Y W. Research progress of extracorporeal shock wave therapy in the treatment of knee osteoarthritis [J]. *Chin Foreign Med Res*, 2025, 23(7): 154-159.