

杜仲及其有效成分治疗膝骨关节炎的作用机制研究现状

郑曲¹, 张宇^{1*}, 杨永菊², 于河山², 关雪峰³, 陈宇^{4*}

(1. 辽宁中医药大学, 沈阳 110847; 2. 辽宁中医药大学附属医院, 沈阳 110847;
3. 沈阳药科大学, 沈阳 110016; 4. 辽宁中医药大学附属第二医院, 沈阳 110034)

[摘要] 膝骨关节炎(KOA)是中老年常见的退行性关节疾病,发病率随着人口老龄化程度加深及肥胖人群增加而不断增加,严重影响患者健康及日常生活。目前采用的非甾体类抗炎药、软骨保护类药物、阿片类镇痛药等对症治疗手段作用有限,且药物不良反应明显。杜仲是治疗KOA常用且有效的中药之一,但其作用机制和药效物质基础尚未明确,限制了其在临床更为广泛的运用。杜仲在KOA治疗领域的有效成分主要为环烯醚萜类(京尼平苷、杜仲苷/桃叶珊瑚苷)、木脂素类(松脂醇二葡萄糖苷)、黄酮类(槲皮素、紫云英苷、黄芩素、金丝桃苷、山柰酚)、苯丙素类(绿原酸)、杜仲多糖等化合物,他们主要通过丝裂原活化蛋白激酶、核转录因子- κ B、磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B及等Janus激酶1/信号转导和转录激活因子3等信号通路,来调节炎症因子水平、抗氧化应激反应、保护软骨细胞、平衡细胞外基质合成与降解等,控制KOA病情进展。该文对杜仲及其有效成分在KOA治疗方面的作用机制进行了综述,以期KOA新药研发提供理论依据。

[关键词] 杜仲; 有效成分; 膝骨关节炎; 作用机制; 信号通路

[中图分类号] R284; R285; R289; R287; R22; R2-031; R33; R24 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903 (2023)24-0225-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20231213

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20230921.1656.002>

[网络出版日期] 2023-09-22 12:01:06

Mechanism of Eucommiae Cortex and Its Active Components in Treatment of Knee Osteoarthritis: A Review

ZHENG Qu¹, ZHANG Yu^{1*}, YANG Yongju², YU Heshan², GUAN Xuefeng³, CHEN Yu^{4*}

(1. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Shenyang 110847, China;

2. Affiliated Hospital of Liaoning University of TCM, Shenyang 110847, China;

3. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

4. The Second Affiliated Hospital of Liaoning University of TCM, Shenyang 110034, China)

[Abstract] Knee osteoarthritis (KOA) is a common degenerative joint disease in the middle-aged and elderly. The incidence of KOA is rising as the population aging aggravates and the obese population grows. KOA seriously affects the health and daily life of the patients. The commonly used drugs for the symptomatic treatment of KOA include non-steroidal anti-inflammatory drugs, cartilage protective drugs, and opioid analgesics, which have limited therapeutic effects and induce obvious adverse drug reactions. Eucommiae Cortex is one of the commonly used Chinese herbal medicines for the treatment of KOA, while its pharmacological material basis and mechanism remain unclear, which limits its clinical application. The active ingredients of Eucommiae

[收稿日期] 2023-06-19

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2021YFC1712800);辽宁省科学技术计划项目创新能力提升联合基金项目(2022-NLTS-13-02);辽宁省自然科学基金面上项目(2022-MS-286);辽宁中医药大学高层次人才启动基金资助项目(2021LZYGC004)

[第一作者] 郑曲,博士,博士后,副主任医师,讲师,从事中医药防治骨性关节炎临床及机制研究,E-mail:362523993@qq.com

[通信作者] *张宇,博士,博士后,副编审,从事骨性关节炎的中医药治疗研究,E-mail:948122417@qq.com;

*陈宇,硕士,副主任医师,从事中医骨伤研究,E-mail:18940151181@163.com

Cortex for treating KOA mainly include iridoids (geniposide, aucubin), lignans (pinosresinol diglucoside), flavonoids (quercetin, astragaloside, baicalein, hyperoside, and kaempferol), phenylpropanoids (chlorogenic acid), and polysaccharides. These compounds regulate the levels of inflammatory cytokines, inhibit oxidative stress, protect chondrocytes, balance the synthesis and degradation of extracellular matrix, and control the progression of KOA via the mitogen-activated protein kinase, nuclear factor- κ B, phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, and Janus kinase 1/signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathways. This paper introduces the mechanisms of Eucommiae Cortex and its active components in the treatment of KOA, aiming to provide a theoretical basis for the development of new drugs for KOA.

[Keywords] Eucommiae Cortex; active ingredients; knee osteoarthritis; mechanism of action; signaling pathways

膝骨关节炎(KOA)为临床常见的骨关节炎(OA)的一种类型,以膝关节软骨磨损、滑膜炎、软骨下骨异常增殖及骨赘形成等为主要病理变化^[1-2],引发的膝关节疼痛、功能障碍等症状反复发作并逐步加重,严重影响患者健康及日常生活。KOA好发于中老年人群,我国流行病学资料显示^[3-4],症状性KOA每年的患病率已达8.1%,其中60岁以上人群发病率更是高达42.8%,而且随着人口老龄化程度加深及肥胖人群增加而不断增加。针对KOA,临床上目前一般采用口服非甾体类抗炎药、氨基糖类药物、关节内注射皮质类固醇类、透明质酸等进行治疗^[5],但是大部分仅能减轻症状,但无法阻止病情进展,且药物不良反应明显。中医药以其治疗手段多样、疗效确切、不良反应少等优势^[6],被越来越广泛的应用于KOA的临床治疗。KOA属于中医“骨痹”“膝痹”“痛痹”等范畴,多因肝肾亏损,筋脉失养,风寒湿邪乘虚侵袭所致,治疗上也侧重于补肝益肾。杜仲有补肝肾、强筋骨、安胎等功效,有研究发现,其是中医治疗KOA的高频药物之一^[7]。但是,在以往的研究中,杜仲多作为中药复方制剂的一部分用于治疗KOA,而单味杜仲在KOA治疗中的作用机制和药效物质基础尚未明确。因此,本文通过总结、分析近年来的相关文献进行,对杜仲及其有效成分干预KOA的作用及机制进行综述,以期全面阐释杜仲防治KOA的作用机制,为KOA新药研发提供理论依据。

1 杜仲及其有效成分治疗KOA的相关研究

杜仲属名贵滋补药材,为杜仲科植物杜仲树的干燥树皮,性温,味甘、微辛,归肝、肾经,能补肝肾、强筋骨及安胎,《本草便读》云其“益肾培肝,腰膝虚疼用取治”^[8],《玉楸药解》称其能“治腰膝酸痛,腿足拘挛”^[9],是骨伤科常用中药之一。现代研究发现^[10-11],杜仲有降压、增强免疫力、调节骨代谢、抗

炎、镇痛、延缓衰老等药理作用。已有相关临床及实验研究证实了杜仲在KOA防治中的有效性。刘东^[12]采用全杜仲胶囊联合针灸对63例KOA患者进行治疗,4周后发现杜仲联合针灸能降低患者西安大略和麦克马斯特大学骨关节炎指数评分(WOMAC)和视觉模拟评分(VAS),改善临床症状,减轻疼痛,同时提高Lysholm膝关节评分量表(LKSS)评分及SF-36生活质量量表评分,提升膝关节功能和生活质量。鲁海等^[13]的实验研究发现,杜仲煎液灌胃能够通过降低关节冲洗液中基质金属蛋白酶(MMP)-1水平,提高金属蛋白酶组织抑制剂(TIMP)-1浓度,对大鼠KOA模型的关节软骨发挥保护作用。杨德猛等^[14]采用横断膝关节内侧半月板胫骨韧带的方法建立KOA大鼠模型,并用杜仲醇提取物灌胃进行干预,发现杜仲醇提取物能降低血清炎性因子白细胞介素(IL)-6、IL-1 β 及肿瘤坏死因子(TNF)- α 水平,来抑制炎症反应,减轻关节软骨损伤,其作用可能与调节Janus激酶1(JAK1)/信号传导和转录激活因子3(STAT3)信号通路活性有关。

通过查阅文献可知,杜仲中主要含环烯醚萜类、木脂素类、黄酮类、苯丙素类、杜仲多糖等多种有效成分^[15-16],在OA的治疗中均发挥着积极作用。

1.1 环烯醚萜类 环烯醚萜类是杜仲中含量较高的活性化合物,主要包括京尼平苷、杜仲苷(桃叶珊瑚苷)等,具备多种药理活性。京尼平苷是一种环烯醚萜葡萄糖苷,有研究采用改良Hulth法成功制备兔KOA模型,后分别提取膝关节滑膜细胞、软骨细胞进行培养,再用质量浓度为0、20、40、60、80 mg·L⁻¹的京尼平苷进行干预,结果发现80 mg·L⁻¹的京尼平苷组滑膜细胞抑制率最高,TNF- α 、B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)蛋白表达最低,滑膜细胞上清液中IL-1水平最低,且各指标改变呈现明显的浓度依赖关系,提示京尼平苷能抑制兔KOA滑膜细胞增殖,

诱导滑膜细胞凋亡,减轻炎症反应^[17];还发现各京尼平苷组软骨细胞增殖率上升,Ⅱ型胶原(Collagen Ⅱ)和细胞分裂周期分裂基因2(CDC2)表达增加,软骨细胞上清液IL-1、TNF- α 含量降低,表明京尼平苷可促进兔KOA软骨细胞增殖,抑制软骨细胞退变^[18-19]。李皓等^[20]用硝普钠诱导大鼠软骨细胞凋亡,再采用80、160 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 京尼平苷对其进行干预,结果发现,京尼平苷组凋亡软骨细胞中一氧化氮合酶(iNOS)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)表达水平降低,软骨细胞凋亡数也下降,表明京尼平苷对软骨细胞凋亡具有保护作用;陈万军等^[21]也发现,京尼平苷能干预硝普钠诱导的软骨细胞凋亡,还能促进细胞增殖,而该作用可能通过调节细胞周期来实现。杜仲苷被称为“天然抗生素”,WANG等^[22]通过内侧半月板不稳术建立小鼠KOA模型,采用桃叶珊瑚苷灌胃进行干预,结果发现,KOA模型小鼠的国际骨关节炎研究协会(OARSI)明显改善,表明桃叶珊瑚苷能延缓KOA进展,进一步研究发现,该作用可能是通过抑制活性氧(ROS)过量产生及软骨细胞凋亡来实现的。栾彦军等^[23]的类似研究也发现,桃叶珊瑚苷能延缓小鼠OA疾病进展,而其机制可能与抑制炎症因子[TNF- α 、IL-6、前列腺素E₂(PGE₂)、MMP-3]表达及调节凋亡相关基因(Bcl-2、Bax)表达有关。谢国平等^[24]采用不同浓度的杜仲苷在体外对IL-1 β 诱导的大鼠软骨细胞炎性模型进行干预,结果发现,杜仲苷能剂量依赖性的提高软骨细胞增殖活力及Collagen Ⅱ表达水平,对软骨细胞发挥抗炎保护作用。可见,杜仲中的环烯醚萜类成分可通过抑制滑膜细胞增殖、诱导滑膜细胞凋亡、减轻滑膜炎、提高软骨细胞增殖活力、抑制软骨细胞凋亡退变、抗氧化应激等对OA发挥治疗作用。

1.2 木脂素类 木脂素类是杜仲中研究最多的一种化合物,目前从杜仲中分离出的木脂素已有32种,其中松脂醇二葡萄糖苷可作为杜仲药材质量控制的重要指标,也是与杜仲治疗KOA相关的主要木脂素类成分。研究中通过前交叉韧带横断术建立兔KOA模型,之后分为对照组、模型组、透明质酸钠注射液及松脂醇二葡萄糖苷高、低剂量组,并采用相应药物关节腔内注射进行干预,结果发现,与模型组比较,松脂醇二葡萄糖苷组兔模型的异常软骨组织形态学改善,MMP-1表达及血清IL-1 β 、IL-6和TNF- α 水平降低,磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)、蛋白激酶B(Akt)表达下调,TIMP-1表达和Bcl-2/Bax比率升高,表明松脂醇二葡萄糖苷能抑制PI3K/Akt

通路激活,抑制炎症反应和细胞凋亡,有效减轻OA进展^[25-26]。

1.3 黄酮类 杜仲的黄酮类成分主要包括槲皮素、紫云英苷、黄芩素、金丝桃苷、山柰酚等,有抗氧化、抗菌、抗衰老、止咳、护肝及改善心血管系统等多种药理作用。ZHANG等^[27]研究发现,槲皮素可降低KOA模型大鼠关节滑液中的IL-1 β 及TNF- α 水平,其作用可能与抑制Toll样受体(TLR)-4/核转录因子- κ B(NF- κ B)通路有关。WEI等^[28]采用Hulth改良法建立KOA兔模型,分为未处理组、塞来昔布处理组及槲皮素处理组并灌胃给药,结果发现,槲皮素处理组血清、滑液和滑膜组织中过氧化物歧化酶(SOD)和TIMP-1表达高于未处理组,MMP-13表达低于未处理组,表明槲皮素能够通过抑制氧化应激反应和软骨细胞外基质(ECM)降解,控制KOA进展。LV等^[29]的实验研究发现,槲皮素能减轻KOA大鼠关节损伤,其作用可能通过调节结节性硬化症相关蛋白2(TSC2)/RHBE/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路,抑制RHEB、p-mTOR、p-自噬启动蛋白1(ULK1)、p62及MMP-13表达,上调Collagen Ⅱ、聚集蛋白聚糖、TSC2和微管相关蛋白1轻链3BⅡ(LC3BⅡ)表达,及促进细胞自噬来实现。杨博辰等^[30]采用高、中、低紫云英苷灌胃对KOA大鼠模型进行干预,结果发现紫云英苷能剂量依赖性的降低血清中炎症因子(IL-1 β 、IL-6、TNF- α)水平和软骨组织转化生长因子(TGF)- β ₁、MMP-3水平,下调p-c-Jun氨基末端激酶(JNK)/JNK、p-p38丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/p38 MAPK,通过调节JNK/p38 MAPK通路抑制炎症反应,改善KOA模型大鼠软骨损伤,高剂量组作用效果与塞来昔布相当。YI等^[31]网络药理学研究发现,黄芩素能明显减轻关节软骨损失及滑膜炎,改善软骨下骨吸收,还能抑制关节软骨中凋亡相关蛋白[Bax、Bcl-2、胱天蛋白酶-3(Caspase-3)]表达,抑制软骨细胞凋亡,控制小鼠KOA进展。林运华等^[32]采用脂多糖(LPS)诱导软骨细胞炎症模型并将其分为空白组、LPS诱导处理组和LPS+金丝桃苷组,进行相应处理后发现,金丝桃苷可降低MMP-3、MMP-13表达,促进ECM分泌,抑制TNF- α 、IL-6表达,减轻细胞炎症,在体外对OA有一定治疗效果。米倚林等^[33]的研究则发现,山柰酚可以通过调控凋亡相关蛋白Bcl-2、Bax、Caspase-3等抑制软骨细胞凋亡,延缓KOA小鼠病情进展。杜仲中的黄酮类成分在抗炎、抗氧化应激、抑制软骨ECM降解、促进软骨细胞自噬、抑制软

骨细胞凋亡等有良好的效果,可用于KOA防治。

1.4 苯丙素类 杜仲中苯丙素类成分是木脂素的前体,关于该类化合物的研究目前主要集中在绿原酸上。绿原酸属天然抗氧化剂,具有抗炎、抗氧化、抑制血小板聚集等药理作用,多项研究显示,其在KOA治疗方面具有潜在价值。CHEN等^[34]研究发现,在IL-1 β 诱导的软骨细胞炎性损伤中,绿原酸能通过下调诱导型一氧化氮合酶(iNOS)及其诱导的一氧化氮(NO)水平,减少环氧合酶(COX)-2及其催化的PGE₂的合成,NO和PGE₂均是软骨退化相关的炎症介质,表明绿原酸可在IL-1 β 诱导的软骨细胞中发挥抗炎作用。LIU等^[35]采用IL-1 β 刺激人SW-1353软骨细胞来建立OA软骨细胞体外模型,也发现绿原酸能抑制iNOS/NO、COX-2/PGE₂产生,还能降低IL-6、MMP-13及Collagen II表达,证实了绿原酸具有体外抗炎和软骨保护作用。ZADA等^[36]研究称,绿原酸可以降低过氧化氢(H₂O₂)处理的人软骨细胞C28/I2细胞中凋亡标志物Caspase-3、裂解的聚腺苷二磷酸核糖聚合酶(PARP)表达,上调抗凋亡标志物Bcl-xL、抗氧化反应蛋白核因子E₂相关因子2(Nrf2)及NF- κ B表达,保护氧化应激诱导的细胞凋亡,且该过程与激活自噬有关。

1.5 杜仲多糖 杜仲多糖由果糖、阿拉伯糖、岩藻糖等单糖构成,药理作用主要有抗氧化、免疫增强、抗肝纤维化、抗炎镇痛等^[37]。SUN等^[38]采用前交叉韧带横断术成功建立兔KOA模型,分为假手术组、KOA组和杜仲多糖组并予以相应药物关节腔内注射,结果发现,相较于KOA组,杜仲多糖组炎症相关基因IL-6、IL-1 β 、IL-18表达水平下降,成骨和软骨形成相关基因精氨酸酶-1(Arg-1)、TGF- β 及骨形态发生蛋白-6(BMP-6)的表达水平升高,关节软骨破坏程度和OARSI评分降低,同时滑膜M1型巨噬细胞数量下降,M2型巨噬细胞数量上升,表明杜仲多糖可能通过调节滑膜巨噬细胞极化,加速关节软骨修复及软骨下骨重建。李宁博等^[39]研究发现,在IL-1 β 诱导的小鼠软骨细胞ATDC5损伤中,杜仲多糖能降低炎症介质(TNF- α 、NO、IFN- γ 和IL-6)、氧化应激指标ROS含量、及ECM降解标志物MMP-13水平,升高TIMP-1水平,抑制ATDC5细胞凋亡并促进其增殖,减轻软骨细胞损伤,作用机制可能与抑制NF- κ B通路相关。

2 杜仲及其有效成分治疗KOA的作用机制

2.1 调节细胞因子

2.1.1 调节炎症因子水平 炎症因子诱发并加重

炎症反应,参与滑膜炎、软骨细胞损伤、ECM降解、软骨细胞增殖抑制、骨赘形成等过程,在KOA发生发展中扮演着十分重要的角色。最常见的炎症因子有IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、NO等^[40]。IL-1 β 是由单核-巨噬细胞产生的一种IL-1亚型,其既能通过自身分泌增加含量,独立引发炎症反应、促进软骨分解,又可促进TNF- α 、IL-6等其他细胞因子合成,并与其他介质联合致炎,是诱发KOA的关键因子。TNF- α 、IL-6也是促炎因子,TNF- α 过表达能促进软骨细胞分泌蛋白酶激活剂,大量溶解软骨胶原蛋白,还能引起滑膜腺体萎缩,与KOA的滑膜增生、肥厚有密切关系。NO能提高炎症细胞因子释放,使膝关节局部微环境破坏,还能促进胶原蛋白降解、减少软骨ECM合成、促进软骨细胞凋亡等,其水平和KOA软骨的破坏程度存在正相关关系。黎永华等^[41]的网络药理学研究称,杜仲中的杜仲苷、杜仲脂素A、槲皮素等21种活性成分主要通过抑制局部炎症反应、调控软骨细胞和滑膜细胞的细胞周期活动等机制来治疗KOA滑膜炎病变。邵一鸣等^[42]研究认为,槲皮素治疗OA的主要机制为通过影响TNF、Akt1等关键靶点来发挥抗炎、抗软骨细胞凋亡的作用。刘俊等^[43]研究发现,槲皮素能降低兔KOA模型关节滑液中IL-1 β 、TNF- α 的含量,且作用效果与塞来昔布相当。LOU等^[25]用松脂醇二葡萄糖苷关节腔内注射干预兔KOA模型,发现松脂醇二葡萄糖苷可降低兔模型血清IL-1 β 、IL-6和TNF- α 水平,抑制炎症反应,改善异常软骨组织形态,控制KOA进展。CHEN等^[34]发现,绿原酸能抑制IL-1 β 诱导的软骨细胞炎性损伤中iNOS的表达,降低NO水平,减轻IL-1 β 诱导的软骨细胞炎症,缓解软骨退化。

2.1.2 抗氧化应激反应 软骨细胞在生理状态下会不断产生ROS以维持细胞正常活动,但ROS过度产生则可诱发氧化应激,损害细胞。在KOA中,过量产生的ROS能使细胞内信号通路异常,软骨细胞的生命周期改变,引发软骨基质代谢紊乱,还能导致滑膜炎发生及软骨下骨功能障碍。因此,有效清除ROS,抑制关节软骨氧化应激在KOA治疗中十分重要。杜仲中的多种有效成分均有较好的抗氧化作用。YOUNG等^[44]通过H₂O₂及机械刺激诱导OA软骨细胞模型,再采用桃叶珊瑚苷进行干预,发现桃叶珊瑚苷能够清除ROS,降低Caspase-3活性,下调IL-6、MMP-13表达,维持人硫酸盐黏多糖(sGAG)含量,发挥抗氧化、抗凋亡及抗炎作用,减轻软骨细胞损伤。HUANG等^[45]研究也认为,桃叶

珊瑚苷能够恢复 IL-1 β 刺激的软骨细胞的总抗氧化能力。过氧化还原酶 5(Prdx5) 过氧化物还原酶家族的成员,能够清除细胞内 ROS,抵抗氧化,保护细胞,对 OA 的预防和治疗有重要作用。任虹等^[46]研究发现,杜仲苷可能通过上调 Prdx5 表达来加速 OA 软骨细胞增殖,同时抑制其凋亡,从而保护软骨细胞。FENG 等^[47]研究称,槲皮素能减轻 KOA 模型大鼠氧化应激,同时通过激活沉默信息调节因子 1(SIRT1)/腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)信号通路抑制内质网应激,减少软骨细胞凋亡,消除 KOA 膝关节软骨退化。

2.2 保护软骨细胞 关节软骨由软骨细胞和 ECM 构成,作为软骨组织中唯一的一种细胞,其增殖与凋亡在生理其情况下维持动态平衡,而一旦平衡打破,软骨细胞过度凋亡,则可造成软骨丢失,这正是 KOA 发病的主要机制之一^[48]。抑制软骨细胞凋亡、促进软骨细胞增殖均有利于保护软骨细胞,减少软骨丢失,控制 KOA 病情。李刚等^[49]的网络药理学研究也显示,杜仲中活性成分槲皮素、山柰酚等防治 OA 的作用机制一方面为直接影响细胞增殖、分化及凋亡,改善骨代谢平衡,另一方面为通过调控炎症、免疫等,间接调节骨与软骨微环境,保护软骨。研究发现,京尼平苷能够通过抑制促凋亡蛋白 Bax 表达,来抑制硝普钠诱导的大鼠软骨细胞凋亡^[20];还能通过调节细胞周期促进软骨细胞增殖,发挥对软骨细胞的保护作用^[21]。YI 等^[31]报道称,黄芩素能有效下调关节软骨中凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2、Caspase-3 表达,抑制软骨细胞凋亡,减轻关节软骨损失,控制小鼠 KOA 病情。丘志河等^[50]研究认为,山柰酚能够促进 LPS 诱导的人正常软骨细胞 C28/I2 增殖,同时抑制细胞凋亡。细胞自噬是关节软骨的重要保护机制,有研究发现^[51],KOA 膝关节软骨组织中的自噬水平降低,并且与软骨细胞凋亡存在负相关关系。ZADA 等^[36]研究发现,绿原酸可通过刺激 H₂O₂ 处理的人软骨细胞 C28/I2 细胞自噬,激活 NRF2、NF- κ B 信号,抑制凋亡相关蛋白 Caspase-3、裂解的 PARP 表达,促进抗凋亡蛋白 Bcl-xL 表达,减少氧化应激诱导的软骨细胞凋亡。

2.3 平衡 ECM 合成与降解 ECM 是软骨组织中除软骨细胞之外的另一重要成分,由 Collagen II、蛋白多糖等组成,其合成与降解失衡能导致 ECM 大量缺失,软骨完整性破坏、退化,这也是 KOA 发生的机制之一。MMP 和 TIMP 是维持 ECM 降解平衡的重要因子,其中 MMP 能特异性的降解绝大部分软

骨 ECM,造成软骨组织破坏,而 TIMP-1 则对几乎所有 MMP 有抑制作用。鲁海等^[13]研究发现,杜仲煎液灌胃能降低大鼠 KOA 模型关节冲洗液中 MMP-1 水平,提高 TIMP-1 浓度,对关节软骨发挥保护作用。袁小亮等^[52]采用 Hulth 法复制了大鼠实验性 KOA 模型,经槲皮素干预后发现,KOA 模型膝关节液中 MMP-13 表达量明显下降,TIMP-1 表达量上升,MMP-13/TIMP-1 下降;进一步体外研究发现,槲皮素能剂量依赖性的下调 IL-1 β 刺激的软骨细胞中 MMP-13 mRNA 及蛋白表达,上调 TIMP-1 mRNA 及蛋白表达,表明槲皮素能通过降低 MMP-13/TIMP-1 的比例,来抑制软骨 ECM 降解,保护 KOA 大鼠关节软骨。研究中金丝桃苷可降低 LPS 诱导的软骨细胞炎症模型中 MMP-3、MMP-13 表达,促进 ECM 分泌,在体外对 OA 有一定治疗效果^[32]。

3 杜仲及其有效成分治疗 KOA 的信号通路

3.1 MAPK 通路 MAPK 在哺乳动物中广泛存在,能够被炎性细胞因子、神经递质等各种细胞外刺激激活,调控细胞活动。MAPK 家族中,与 KOA 发生发展密切相关的是 p38 MAPK、JNK 及 ERK 通路,对关节软骨细胞增殖、分化、凋亡、炎性因子释放等均可起到调控作用^[53-56]。杨博辰等^[30]发现,紫云英苷能通过抑制 JNK/p38 MAPK 通路激活,下调炎症因子(IL-1 β 、IL-6、TNF- α)一级软骨组织 TGF- β ₁、MMP-3 表达,减轻 KOA 大鼠的炎症反应,减轻关节软骨损伤。CHEN 等^[57]发现,京尼平苷可通过抑制 p38 MAPK 通路,抑制 KOA 兔滑膜液及软骨细胞 IL-1、TNF- α 、NO、MMP-13 表达,减轻炎症反应。王象鹏等^[58]研究表明,槲皮素能通过抑制 p38 MAPK 信号通路中 p38 表达及磷酸化,下调 MMP-13、解聚蛋白样金属蛋白酶-4 等表达,上调 Collagen II 表达,降低 OA 炎性因子 IL-1 β 、TNF- α 表达,发挥保护 OA 关节软骨的作用。丝裂原激活蛋白激酶激酶 6(MAP2K6)是 MAPK 信号通路二级激酶,可以通过对下游 p38 MAPK 的表达进行调控,在细胞应激、细胞凋亡、应激等生理及病理过程中发挥重要作用。杨波等^[59]研究发现,黄芩素能通过上调 miR-29a-3p 表达,靶向抑制 MAP2K6 表达,下调下游 p38 MAPK 表达,进而抑制下游转录因子 MAX,抑制 IL-1 β 诱导的 OA 软骨细胞凋亡,增加软骨细胞活力,这可能是黄芩素改善 KOA 软骨退化的机制。

3.2 NF- κ B 通路 NF- κ B 是与免疫反应、炎症、细胞凋亡等相关的常见信号通路,可以被大量的炎症因子激活。在 KOA 发生过程中,被激活的 NF- κ B

可诱导炎症介质、MMPs等表达,加剧了关节炎反应,破坏软骨和ECM,促使KOA加重,而抑制NF- κ B通路有助于减弱炎症反应,促使KOA改善。WANG等^[60]研究显示,桃叶珊瑚苷干预IL-1 β 刺激的大鼠软骨细胞之后,软骨细胞的p65磷酸化和核转位被抑制,MMP-3、MMP-9、MMP-13、iNOS、COX-2的基因和蛋白表达水平下降,NO表产生量降低,表明桃叶珊瑚苷可通过抑制NF- κ B信号通路发挥抗炎和软骨保护作用。李宁博等^[39]研究认为,杜仲多糖可能通过抑制NF- κ B通路激活,来下调IL-1 β 处理的小鼠软骨细胞ATDC5中下游基因p-p65表达和细胞核内p65阳性表达,上调TIMP-1表达,进而抑制TNF- α 、NO、IFN- γ 、IL-6、ROS及MMP-13释放,提高ATDC5软骨细胞活力,抑制细胞凋亡,减轻软骨细胞损伤。

3.3 PI3K/Akt通路 PI3K/Akt信号通路也是机体重要的炎性信号通路,其能调控骨细胞的自噬、凋亡、炎症反应等过程,参与维持骨代谢及骨平衡,与KOA进程紧密相关。LOU等^[25]通过网络药理学研究发现,杜仲松脂醇二葡萄糖苷对OA的保护作用可能与PI3K/Akt信号通路相关,同一研究的动物实验部分证实,松脂醇二葡萄糖苷能通过下调PI3K、Akt表达抑制PI3K/Akt信号通路,上调下游TIMP-1表达和Bcl-2/Bax值,抑制MMP-1表达及血清炎症因子(IL-1 β 、IL-6和TNF- α)水平,从而抑制炎症反应和细胞凋亡,改善KOA模型兔软骨形态。NF- κ B是PI3K/Akt下游的靶蛋白之一,可以被活化的PI3K/Akt信号通路激活,有研究认为,PI3K/Akt/NF- κ B是KOA治疗的潜在靶点^[61]。PAN等^[62]报道称,京尼平苷能通过抑制IL-1 β 诱导的PI3K/Akt/NF- κ B信号通路激活,下调抑制Bax、Cyto-c和Caspase-3等促凋亡蛋白的表达,上调抗凋亡蛋白Bcl-2的表达,抑制炎症和软骨细胞凋亡。

3.4 JAK1/STAT3通路 JAK/STAT是机体内广泛存在的有关炎性因子在细胞内进行信号传递的通路,可用于KOA治疗。有研究发现,LPS诱导的软骨细胞中JAK1表达上调,STAT3发生磷酸化,致使细胞活力受损^[63]。信号转导抑制因子3(SOCS3)是STAT3下游靶标,对STAT3有负反馈调节作用,其缺失可引起STAT3异常激活,引发关节炎。杨德猛等^[14]研究表明,杜仲醇提取物能通过抑制JAK1/STAT3信号转导通路活性,上调细胞因子SOCS3水平,进而降低下游炎性因子IL-6、IL-1 β 、TNF- α 及MMP-13表达,发挥炎症抑制及软骨细胞保护作用。

4 小结与展望

明确杜仲中的有效成分及在KOA防治方面的作用机制,对于深入了解并推广应用杜仲治疗KOA十分重要。笔者在本文中对近年来相关的文献进行查阅、分析、总结,发现杜仲在KOA治疗领域的有效成分研究多集中在环烯醚萜类(京尼平苷、杜仲苷/桃叶珊瑚苷)、木脂素类(松脂醇二葡萄糖苷)、黄酮类(槲皮素、紫云英苷、黄芩素、金丝桃苷、山柰酚)、苯丙素类(绿原酸)、杜仲多糖等化合物上;主要通过MAPK、NF- κ B、PI3K/Akt及等JAK1/STAT3等信号通路,来调节炎性因子水平、抗氧化应激反应、保护软骨细胞、平衡ECM合成与降解等,控制KOA病情进展。证实了杜仲及其有效成分在治疗KOA方面具有多靶点、多途径等优势。但是,笔者也发现,该领域目前的相关研究也有以下一些不足之处:①杜仲中有效成分的种类及数量仍不够全面,也缺乏各有效成分之间是否存在相互协同作用的相关探讨;②研究方式以体外实验、动物实验为主,缺乏系统的临床试验作为佐证,无法明确杜仲各有效成分对KOA的确切疗效。基于此,在今后的研究中,可借助网络药理学方法,更全面地筛选杜仲防治KOA的潜在成分、作用靶点,同时充分利用药理学工具药、基因编辑动物等,从多个信号通路出发,深入研究杜仲各有效成分药效变化、协同作用、对信号通路的影响等,并且增加相关临床试验,进一步阐明杜仲治疗KOA作用机制,为未来临床用药奠定基础。

[参考文献]

- [1] YUNUS MHM, NORDIN A, KAMAL H. Pathophysiological perspective of osteoarthritis [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2020,56(11):614.
- [2] GIORGINO R, ALBANO D, FUSCO S, et al. Knee osteoarthritis: Epidemiology, pathogenesis, and mesenchymal stem cells: What else is new? An update [J]. *Int J Mol Sci*. 2023,24(7):6405.
- [3] 魏国俊,丁玉芬,施彦龙,等. 中西医治疗膝骨性关节炎研究概况[J]. *实用中西医结合临床*,2022,22(21):125-128.
- [4] 周友龙,胡闯北,张雅琪,等. 膝骨性关节炎中西医结合治疗进展[J]. *辽宁中医药大学学报*,2019,21(1):11-15.
- [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] 黄明辉,宋进良,陈彦军,等. 中医药治疗膝骨关节炎

- 研究进展[J]. 河北中医, 2017, 39(12): 1913-1916, 1920.
- [7] 廖建青, 吕静, 赖福崇, 等. 中药内服治疗膝骨性关节炎的用药规律分析[J]. 云南中医学院学报, 2020, 43(1): 83-88.
- [8] 程良骏, 姜黎平. 张山雷研究集成[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2015: 135.
- [9] 黄元御. 玉楸药解[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2017: 40.
- [10] 王娟娟, 秦雪梅, 高晓霞, 等. 杜仲化学成分、药理活性和质量控制现状研究进展[J]. 中草药, 2017, 48(15): 3228-3237.
- [11] 李振华. 杜仲的现代药理学研究及临床应用文献综述[J]. 甘肃科技纵横, 2018, 47(3): 93-96.
- [12] 刘东. 全杜仲胶囊联合针灸治疗膝关节关节炎的临床观察[J]. 中国合理用药探索, 2018, 15(12): 5-8, 13.
- [13] 鲁海, 谢国平, 刘文刚, 等. 杜仲干预大鼠膝骨性关节炎关节软骨破坏的机理研究[J]. 内蒙古中医药, 2015, 34(11): 144-145.
- [14] 杨德猛, 王长庚, 胡芯源. 杜仲醇提取物对骨关节炎模型大鼠关节软骨的保护[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(23): 3756-3761.
- [15] 胡杨, 李先芝, 刘洋, 等. 杜仲化学成分、药理作用及应用研究进展[J]. 亚太传统医药, 2022, 18(2): 234-239.
- [16] 高宏伟, 李玉萍, 李守超. 杜仲的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2021, 38(6): 73-81.
- [17] 李传郡. 京尼平苷对兔膝关节滑膜细胞影响的实验研究[D]. 宜昌: 三峡大学, 2013.
- [18] 刘万军, 赵振国, 李传郡, 等. 京尼平苷对兔膝关节关节炎软骨细胞的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2014, 31(9): 2075.
- [19] 赵振国. 京尼平苷对兔膝关节关节炎软骨细胞影响的实验研究[D]. 宜昌: 三峡大学, 2013.
- [20] 李皓, 李仁嵩, 肖志刚, 等. 京尼平苷对老年大鼠软骨细胞凋亡的保护作用及机制[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(1): 168-172.
- [21] 陈万军, 鲍同柱, 陈恳, 等. 京尼平苷对硝普钠诱导软骨细胞凋亡与细胞周期的影响[J]. 中国骨伤, 2013, 26(3): 232-235.
- [22] WANG B W, JIANG Y, YAO Z L, et al. Aucubin protects chondrocytes against IL-1 β -induced apoptosis *in vitro* and inhibits osteoarthritis in mice model [J]. Drug Des Devel Ther, 2019, 13: 3529-3538.
- [23] 栾彦军, 王磊, 贾戊. 桃叶珊瑚苷在体外抑制白细胞介素-1 β 诱导的软骨细胞凋亡及减缓小鼠骨关节炎疾病进展实验研究[J]. 陕西医学杂志, 2022, 51(9): 1055-1059, 1065.
- [24] 谢国平, 王胜楠, 姜楠. 杜仲苷对炎症环境下软骨细胞的增殖和II型胶原蛋白分泌的影响[J]. 按摩与康复医学, 2014, 30(4): 213-215.
- [25] LOU H, ZHANG Y, FANG J, et al. Network pharmacology-based prediction and verification of the potential targets of pinosresinol diglucoside for OA treatment [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 9733742.
- [26] 楼红侃, 许旻鸣, 方剑利, 等. 基于PI3K/Akt信号通路探讨松脂醇二葡萄糖苷对兔膝关节关节炎软骨细胞保护机制的研究[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(1): 190-193, 286-289.
- [27] ZHANG J, YIN J, ZHAO D, et al. Therapeutic effect and mechanism of action of quercetin in a rat model of osteoarthritis [J]. J Int Med Res, 2020, 48(3): 300060519873461.
- [28] WEI B, ZHANG Y, TANG L, et al. Protective effects of quercetin against inflammation and oxidative stress in a rabbit model of knee osteoarthritis [J]. Drug Dev Res, 2019, 80(3): 360-367.
- [29] LV S, WANG X, JIN S, et al. Quercetin mediates TSC2-RHEB-mTOR pathway to regulate chondrocytes autophagy in knee osteoarthritis [J]. Gene, 2022, 820: 146209.
- [30] 杨博辰, 付学敬, 朱琳. 紫云英苷对膝关节骨性关节炎大鼠JNK/p38 MAPK信号通路的影响[J]. 中国骨质疏松杂志, 2022, 28(10): 1491-1495, 1500.
- [31] YI N, MI Y, XU X, et al. Baicalein alleviates osteoarthritis progression in mice by protecting subchondral bone and suppressing chondrocyte apoptosis based on network pharmacology [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 788392.
- [32] 林运华, 孔凤瑶, 梁锐明. 金丝桃苷对LPS诱导的体外骨关节炎作用研究[J]. 蛇志, 2020, 32(4): 420-423.
- [33] 米倚林, 易南星, 许晓彤, 等. 山柰酚抑制软骨凋亡延缓小鼠膝关节关节炎的实验研究[J]. 海南医学院学报, 2022, 28(17): 1299-1306.
- [34] CHEN W P, WU L D. Chlorogenic acid suppresses interleukin-1 β -induced inflammatory mediators in human chondrocytes [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(12): 8797-8801.
- [35] LIU C C, ZHANG Y, DAI B L, et al. Chlorogenic acid prevents inflammatory responses in IL-1 β -stimulated human SW-1353 chondrocytes, a model for osteoarthritis [J]. Mol Med Rep, 2017, 16(2): 1369-1375.
- [36] ZADA S, PHAM T M, HWANG J S, et al. Chlorogenic acid protects human chondrocyte C28/I2 cells from oxidative stress-induced cell death through activation

- of autophagy[J]. *Life Sci*, 2021, 285:119968.
- [37] 张晓芳, 胡文忠, 姜爱丽, 等. 杜仲多糖的提取方法及药理作用研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2021, 30(4): 347-351.
- [38] SUN Y, HUANG K, MO L, et al. Eucommiae Cortex polysaccharides attenuate rabbit osteoarthritis by regulating the function of macrophages [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 730557.
- [39] 李宁博, 骆晓飞, 尹夏, 等. 杜仲多糖通过抑制NF- κ B通路减轻IL-1 β 诱导的软骨细胞损伤[J]. *中国骨伤*, 2022, 35(7): 661-668.
- [40] 王迷娜, 刘璐, 赵洛鹏, 等. 膝骨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.
- [41] 黎永华, 冯强, 谭仁霆, 等. 杜仲活性成分抗膝骨关节炎滑膜炎病变分子机制的网络药理学阐述[J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(5): 765-771.
- [42] 邵一鸣, 张濛, 张新安, 等. 基于转录组学与网络药理学探讨槲皮素治疗骨关节炎的作用机制[J]. *中医学报*, 2022, 37(10): 2213-2218.
- [43] 刘俊, 胡军祖, 陈蕾, 等. 槲皮素对兔骨关节炎模型关节液中IL-1 β 、TNF- α 水平的影响[J]. *华夏医学*, 2016, 29(4): 5-8.
- [44] YOUNG I C, CHUANG S T, HSU C H, et al. Protective effects of aucubin on osteoarthritic chondrocyte model induced by hydrogen peroxide and mechanical stimulus [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2017, 17(1): 91.
- [45] HUANG T L, YANG S H, CHEN Y R, et al. The therapeutic effect of aucubin-supplemented hyaluronic acid on interleukin-1 β -stimulated human articular chondrocytes[J]. *Phytomedicine*, 2019, 53: 1-8.
- [46] 任虹, 刘娟, 于桂泳, 等. 杜仲苷对骨关节炎软骨细胞增殖和凋亡的影响及其分子机制[J]. *医学研究生学报*, 2021, 34(11): 1144-1149.
- [47] FENG K, CHEN Z, PENGCHENG L, et al. Quercetin attenuates oxidative stress-induced apoptosis via SIRT1/AMPK-mediated inhibition of ER stress in rat chondrocytes and prevents the progression of osteoarthritis in a rat model[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(10): 18192-18205.
- [48] 李亮, 周正新, 周章武, 等. 膝骨关节炎软骨细胞凋亡及软骨下骨重建与信号转导通路关系研究[J]. *中医药临床杂志*, 2017, 29(1): 16-19.
- [49] 李刚, 许波, 梁学振, 等. 杜仲防治骨关节炎的潜在活性成分及作用机制研究[J]. *中医正骨*, 2018, 30(9): 4-9.
- [50] 丘志河, 谢卫勇, 黄刚, 等. 山奈酚通过调控miR21/SOX9对骨关节炎软骨细胞增殖、凋亡的影响[J]. *中国药师*, 2022, 25(12): 2073-2078.
- [51] 许珂, 侯卫坤, 杨治, 等. 骨关节炎软骨组织中的自噬水平降低并与凋亡呈负相关[J]. *美中国际创伤杂志*, 2017, 16(2): 1-4.
- [52] 袁小亮, 李林福, 施伟梅, 等. 槲皮素对关节软骨中MMP-13、TIMP-1表达的影响[J]. *时珍国医国药*, 2016, 27(2): 283-285.
- [53] 王迷娜, 刘璐, 赵洛鹏, 等. 膝骨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.
- [54] 曹陶涛, 杨畅, 孙佳, 等. 黑骨藤靶向TNF- α 抗类风湿关节炎的药效物质基础分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(3): 187-195.
- [55] 庞祥天, 张永怡, 冷雨飞, 等. 艾灸对胶原诱导性关节炎大鼠血清和关节滑膜组织生化改变的代谢组学研究(英文)[J]. *世界针灸杂志*, 2021, 31(1): 30-43.
- [56] 郭子奕, 杨扬, 何忠梅, 等. 基于网络药理学的鹿茸治疗骨关节炎作用的机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(4): 194-204.
- [57] CHEN Y, SHOU K, GONG C, et al. Anti-inflammatory effect of geniposide on osteoarthritis by suppressing the activation of p38 MAPK signaling pathway [J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 8384576.
- [58] 王象鹏, 谢文鹏, 毕亦飞, 等. 基于p38 MAPK信号通路分析槲皮素保护骨性关节炎关节软骨的机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(7): 169-177.
- [59] 杨波, 龙慧, 王郑钢, 等. 黄芩素通过促进miR-29a-3p抑制MAP2K6改善骨性关节炎模型大鼠软骨细胞退化[J]. *中药药理与临床*, 2019, 35(6): 32-37.
- [60] WANG S N, XIE G P, QIN C H, et al. Aucubin prevents interleukin-1 β induced inflammation and cartilage matrix degradation via inhibition of NF- κ B signaling pathway in rat articular chondrocytes[J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 24(2): 408-415.
- [61] 段志远, 于强, 周驰, 等. 蛇床子素对膝骨关节炎大鼠的作用及对PI3K/Akt/NF- κ B信号通路的影响[J]. *解剖科学进展*, 2021, 27(1): 111-114.
- [62] PAN T, SHI X, CHEN H, et al. Geniposide suppresses interleukin-1 β -induced inflammation and apoptosis in rat chondrocytes via the PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway[J]. *Inflammation*, 2018, 41(2): 390-399.
- [63] JIANG M, HE J, GU H, et al. Protective effect of resveratrol on obesity-related osteoarthritis via alleviating JAK2/STAT3 signaling pathway is independent of SOCS3 [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2020, 388: 114871.

[责任编辑 顾雪竹]