

# 桃叶珊瑚苷通过抑制NF- $\kappa$ B信号通路减轻小鼠的膝骨关节炎

麦泳欣<sup>1,2,4</sup>, 周舒婷<sup>2,4</sup>, 温蕊嘉<sup>2,4</sup>, 张锦芳<sup>1</sup>, 詹冬香<sup>2,3,4,5</sup>

<sup>1</sup>广州中医药大学深圳医院, 广东 深圳 518000; <sup>2</sup>广东省岭南特色医院制剂转化工程技术研究中心, 广东 广州 510405; <sup>3</sup>广东省中医临床研究院, 广东 广州 510405; <sup>4</sup>广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405; <sup>5</sup>医疗机构中药制剂与中药新药转化广东省工程研究中心, 广东 广州 510405

**摘要:**目的 探讨桃叶珊瑚苷通过调控NF- $\kappa$ B信号通路治疗膝骨关节炎(KOA)的分子机制。方法 将60只SPF级C57BL/6J小鼠随机分为假手术组、模型组、氨基葡萄糖组(阳性对照)及桃叶珊瑚苷低、中、高剂量组(2、4、8 mg/kg),  $n=10$ 。采用前交叉韧带切断术(ACL)建立KOA模型, 术后第1天开始干预, 1次/周, 连续8周。通过番红固绿染色、免疫组化(IHC)检测软骨病理形态、炎症相关蛋白表达及 $\mu$ CT检测软骨下骨骨体积分数的变化情况(BV/TV); Western blotting检测COL2、SOX9、p-P65、IL-1 $\beta$ 及MMP13蛋白水平。构建软骨细胞KOA模型, 采用阿利新蓝和番红O染色观察成软骨分化能力, RT-PCR检测COL2、SOX9及TNF- $\alpha$ 基因表达。结果 与模型组相比, 桃叶珊瑚苷处理后COL2、SOX9蛋白表达增加, 而pP65、IL-1 $\beta$ 及MMP13蛋白表达降低( $P<0.05$ )。桃叶珊瑚苷处理通过抑制NF- $\kappa$ B信号通路相关蛋白及MMP13的表达, 促进COL2、SOX9等软骨相关蛋白的表达, 增加软骨下骨骨体积分数。IL-1 $\beta$ 诱导的软骨细胞模型中, RT-PCR结果显示, SOX9、COL2的基因表达在桃叶珊瑚苷组中表达增加, 而TNF- $\alpha$ 基因表达降低( $P<0.05$ )。阿利新蓝和番红O染色结果显示, 桃叶珊瑚苷促进软骨细胞外基质合成, 增强成软骨分化能力。结论 桃叶珊瑚苷通过抑制NF- $\kappa$ B信号通路减轻软骨炎症反应, 促进软骨基质合成, 改善软骨下骨微结构, 从而有效治疗KOA。

**关键词:**桃叶珊瑚苷; 骨关节炎; NF- $\kappa$ B; 软骨修复; 基质金属蛋白酶

## Aucubin alleviates knee osteoarthritis in mice by suppressing the NF- $\kappa$ B signaling pathway

MAI Yongxin<sup>1,2,4</sup>, ZHOU Shuting<sup>2,4</sup>, WEN Ruijia<sup>2,4</sup>, ZHANG Jinfang<sup>1</sup>, ZHAN Dongxiang<sup>2,3,4,5</sup>

<sup>1</sup>Shenzhen Hospital (Futian) of Guangzhou University of Chinese Medicine, Shenzhen 518000, China; <sup>2</sup>Guangdong Engineering Technology Research Center of Commercialization of Lingnan Special Medical Institution Preparations, Guangzhou 510405, China; <sup>3</sup>Guangdong Provincial Academy of Clinical Research in Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; <sup>4</sup>First Hospital Affiliated to Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; <sup>5</sup>Guangdong Engineering Research Center of Commercialization of Medical Institution Preparations and Traditional Chinese Medicines, Guangzhou 510405, China

**Abstract: Objective** To assess the therapeutic effect of aucubin in mice with knee osteoarthritis (KOA) and investigate the underlying mechanism. **Methods** Sixty C57BL/6J mice were randomized equally into sham operation group, KOA model group, glucosamine (positive control) treatment group, and low-, medium-, and high-dose aucubin treatment groups (2, 4, and 8 mg/kg, respectively). KOA mouse models were established by transection of the anterior cruciate ligament (ACL), and the treatment was initiated on day 1 postoperatively and administered weekly for 8 weeks. Safranin O-fast green staining, immunohistochemistry, and microCT were used to evaluate the changes in cartilage pathology, inflammatory protein expression, and subchondral bone volume fraction (BV/TV). The expression levels of COL2, SOX9, p-P65, IL-1 $\beta$  and MMP13 proteins in the cartilage tissues were detected using Western blotting. In a chondrocyte model with IL-1 $\beta$  treatment for mimicking KOA, the effect of aucubin on chondrogenic differentiation was observed with Alcian blue and Safranin O staining, and cellular COL2, SOX9 and TNF- $\alpha$  mRNA expressions were detected with RT-qPCR. **Results** Compared with those in the model group, the mouse models receiving aucubin treatment showed significantly upregulated COL2 and SOX9 protein levels and downregulated p-P65, IL-1 $\beta$  and MMP13 expressions in the cartilage tissues. In the IL-1 $\beta$ -induced chondrocyte model, aucubin treatment significantly upregulated the mRNA expressions of SOX9 and COL2 but lowered the mRNA expression of TNF- $\alpha$ . Alcian blue and Safranin O staining confirmed that aucubin promoted the synthesis of cartilage extracellular matrix and enhanced chondrogenic differentiation of the cells. **Conclusion** Aucubin can effectively alleviate KOA in mice by inhibiting NF- $\kappa$ B-mediated cartilage inflammation, promoting cartilage matrix synthesis, and improving subchondral bone microstructure.

**Keywords:** aucubin; osteoarthritis; nuclear factor- $\kappa$ B; cartilage repair; matrix metalloproteinases

膝骨性关节炎(KOA)是一种常见的退行性关节疾病<sup>[1]</sup>,其主要特征是随着年龄增长导致的关节软骨受损

和潜在的骨结构改变。炎症因子在骨关节炎(OA)的病理过程中发挥关键作用。关节滑膜炎症和释放的炎症性细胞因子(如IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ )可加速软骨降解并抑制软骨生成<sup>[2,3]</sup>。炎症反应还可能导致关节液变化、增加骨转换和引起关节囊炎<sup>[4]</sup>,目前抑制炎症反应是KOA治疗的经典方法。

核转录因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)作为关键的炎症调控枢

收稿日期:2025-03-14

基金项目:国家自然科学基金(82272526)

Supported by National Natural Science Foundation of China (82272526).

作者简介:麦泳欣,博士,医师,E-mail: 20201110039@stu.gzucm.edu.cn

通信作者:詹冬香,实验师,E-mail: zdxbwjs@gzucm.edu.cn;张锦芳,教授,E-mail: zhangjf06@gzucm.edu.cn

纽,在OA的病理进程中发挥重要调控作用。该通路通过调控炎症介质表达、细胞外基质代谢及软骨细胞凋亡等生物学过程,参与OA的发病机制构建<sup>[5,6]</sup>。临床研究显示,OA患者关节滑液中NF- $\kappa$ B活性升高,且与其软骨破坏程度呈正相关<sup>[7]</sup>。值得注意的是,在肿瘤微环境研究中发现,NF- $\kappa$ B信号通路激活可通过上调基质金属蛋白酶13(MMP13)的表达水平,促进肿瘤细胞的侵袭转移<sup>[8]</sup>。鉴于MMP13作为软骨特异性胶原酶,在OA软骨降解过程中具有关键作用,推测NF- $\kappa$ B/MMP13轴可能成为OA治疗的潜在靶点。然而,目前关于NF- $\kappa$ B信号通路调控MMP13表达在KOA中的具体作用机制,以及该调控轴在关节局部微环境中的表达特征,仍需通过体内外实验进一步验证。

中医药治疗KOA历史悠久,其中一种有效成分桃叶珊瑚苷是一种黄酮类化合物,是中药杜仲、车前草、地黄的主要活性成分,具有抗炎和炎症调控的作用<sup>[9,10]</sup>。研究表明,桃叶珊瑚苷能抑制炎症相关酶活性,如环氧化酶(COX)、白介素、单核细胞趋化因子-1、肿瘤坏死因子以及C反应蛋白等,并调节炎症相关细胞因子,如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ),从而减少细胞损伤和炎症反应<sup>[11-13]</sup>。桃叶珊瑚苷减轻软骨细胞的凋亡并在小鼠模型中有抑制骨关节炎的作用。研究表明,在IL-1 $\beta$ 诱导大鼠关节软骨细胞炎症的模型中,桃叶珊瑚苷能抑制NF- $\kappa$ B信号通路的激活<sup>[14]</sup>。尽管如此,现有桃叶珊瑚苷治疗骨关节炎的分子机制研究仍不完善。本研究旨在探索桃叶珊瑚苷对NF- $\kappa$ B/MMP13信号轴的调控作用,进而为KOA的治疗提供一种新方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物 SPF级C57BL/6J小鼠60只,12周龄,体质量25~30 g,购自广州中医药大学实验动物中心,实验动物许可证:SYXK(粤)2018-0001。小鼠饲养在广州中医药大学SPF级实验动物中心,室温22~25℃,湿度40%~50%,该实验通过广州中医药大学伦理审批(伦理批号:20230331001)。

1.1.2 药物与试剂 桃叶珊瑚苷,DMEM培养基(上海达特希尔生物科技有限公司);FBS,TB Green Premix EX taq™ II, PremerScript™ RT Master MIX EX (Takara);SOX9抗体,P65抗体,TNF- $\alpha$ 抗体,GAPDH抗体(abcam);COL2抗体,MMP13抗体(Thermo Fisher Scientific);pP65抗体(cell signaling);重组小鼠IL-1 $\beta$ ,DMEM培养基,FBS(Gibco)。

1.1.3 仪器 Multiskan FC型酶标仪(Thermo Fisher Scientific);实时荧光PCR(Real-time PCR)仪,Power Pac TMD asic型高压电泳仪(Bio-Rad),3D HISTECH DX12数字病理切片扫描系统(山东斯瑞缔医疗科技有

限公司);Gel Doc EZ型全自动凝胶成像系统、Allegra X-30R型离心机(Beckman);微型CT扫描分析系统(Micro-CT,Brucker)。

### 1.2 方法

1.2.1 小鼠分组与给药 取60只SPF级C57BL/6J小鼠(8周龄,体质量20~25 g),采用随机数字表法分为6组( $n=10$ ):假手术组,模型组,阳性药物组(氨基葡萄糖,150 mg/kg),桃叶珊瑚苷低剂量组(2 mg/kg)、中剂量组(4 mg/kg)、高剂量组(8 mg/kg)。参照文献<sup>[15]</sup>方法进行交叉韧带(ACL)离断术建立膝关节骨性关节炎模型。术后第1天开始,阳性对照组腹腔注射氨基葡萄糖溶液,桃叶珊瑚苷各组按对应剂量腹腔注射给药,假手术组和模型组给予等体积生理盐水。所有小鼠给药1次/周,连续干预8周。末次给药24 h后取材,行番红-固绿染色及免疫组化检测,并使用 $\mu$ CT检测软骨下骨骨体积分数的变化情况(BV/TV)。

1.2.2 Western blotting检测软骨相关蛋白表达 取各组小鼠膝关节软骨组织,提取总蛋白并定量。采用10% SDS-PAGE凝胶电泳分离蛋白(30  $\mu$ g/孔),转膜后5%脱脂奶粉封闭1 h,分别加入NF- $\kappa$ B p65(1:1000)、I $\kappa$ B $\alpha$ (1:1000)、MMP-13(1:800)、Collagen II(1:500)一抗,4℃孵育过夜。次日TBST洗膜后加入HRP标记二抗(1:2000),室温孵育1 h,ECL化学发光法显影,ImageJ软件分析条带灰度值,以 $\beta$ -actin为内参计算相对表达量。

1.2.3 免疫组化染色 取石蜡包埋膝关节组织切片(4  $\mu$ m),60℃烤箱烘烤2 h后脱蜡水化。采用柠檬酸抗原修复液(pH 6.0)高压修复5 min,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>室温封闭15 min。滴加5%山羊血清封闭30 min,加入MMP-13(1:100)、Collagen II(1:200)一抗,4℃孵育过夜。PBS冲洗后滴加辣根过氧化物酶标记二抗(1:200),室温孵育30 min,DAB显色5 min,苏木素复染,梯度酒精脱水,中性树胶封片。每张切片随机选取5个高倍视野( $\times 200$ ),Image-Pro Plus 6.0软件分析阳性表达面积百分比。

1.2.4 IL-1 $\beta$ 诱导的软骨细胞模型的建立与干预 取原代小鼠软骨细胞,以 $1 \times 10^5$ 孔接种于6孔板。待细胞融合至80%时,更换为含10 ng/mL IL-1 $\beta$ 的DMEM培养基,培养24 h建立退变模型。模型组继续培养,桃叶珊瑚苷各组分别加入终浓度为5、10、20  $\mu$ mol/L的药物,阳性对照组加入0.1 mmol/L氨基葡萄糖,正常对照组仅用基础培养基培养。继续培养72 h后,行阿利新蓝染色及番红O染色。

1.2.5 RT-PCR检测基因表达 采用TRIzol试剂提取各组软骨细胞总RNA,经NanoDrop 2000检测纯度后,使用PrimeScript RT试剂盒合成cDNA。以18S rRNA为内参,应用TB Green Premix Ex Taq II进行qPCR反应。

反应条件:95 °C预变性30 s,95 °C 5 s,60 °C 30 s,共40个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算MMP-13、ADAMTS-5、Collagen II、Aggrecan 基因相对表达量,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计并合成。引物序列见表1。

表1 软骨基质合成及炎症反应相关引物序列

Tab.1 Primer sequences for RT-qPCR for amplifying mRNAs associated with cartilage matrix synthesis and inflammatory response

| Gene                   | Primer sequences         |
|------------------------|--------------------------|
| COL2A1-Forward         | GGCAATAGCAGGTTTCACGTACA  |
| COL2A1-Reverse         | CGATAACAGTCTTGCCCCACTT   |
| SOX9-Forward           | TCCTCAGGCTTTGCGATT       |
| SOX9-Reverse           | TGCTCGGGCACTTATTGG       |
| TNF- $\alpha$ -Forward | CTGACGAATTACAGGGCCAAT    |
| TNF- $\alpha$ -Reverse | TGCGTGAACCTCTTGAACAGT    |
| 18S-Forward            | TGGTTGCAAAGCTGAAACTTAAAG |
| 18S-Reverse            | AGTCAAATTAAGCCGCAGGC     |

### 1.3 统计学分析

采用IBM SPSS Statistics 24.0进行统计分析,正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示,非正态分布资料以中位数(四分位间距)描述;对于满足正态分布和方差齐性检验的计量资料,两组比较采用两独立样本 *t* 检验,多组比较采用单因素方差分析;不满足正态分布或者方差齐性检验的资料,多组比较采用Cruskal-Wallis秩和检验,两组比较采用非参数Mann-Whitney *U* 检验。 $P < 0.05$ 时认为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 桃叶珊瑚苷减轻KOA软骨损伤

HE染色结果显示,模型组软骨表面不平整,软骨下骨结构模糊,软骨厚度较假手术组减少;使用氨基葡萄糖干预后,骨厚度较模型组增加;桃叶珊瑚苷干预后,关节软骨随药物浓度升高逐渐改善,高剂量组软骨厚度较模型组增加(图1A)。番红-固绿染色结果显示,模型组软骨基质表层染色减弱、部分区域染色缺失,桃叶珊瑚苷各剂量组呈剂量依赖性增强(图1B)。

$\mu$ CT检测显示,模型组软骨下骨BV/TV明显下降,阳性药物干预后骨小梁结构明显改善,干预后软骨下骨BV/TV值与模型组相比升高( $P < 0.001$ ),桃叶珊瑚苷处理后软骨下骨BV/TV值均有改善,中剂量和高剂量组骨密度较模型组增加( $P < 0.05$ ,  $P < 0.001$ ,图2)。高剂量桃叶珊瑚苷组改善软骨下骨BV/TV的效果与阳性药物相当,差异无统计学意义。

免疫组化结果显示,与模型组相比,桃叶珊瑚苷干预后,p65阳性细胞阳性细胞百分比评分在阳性药物及桃叶珊瑚苷处理后表达量减低( $P < 0.05$ ),高浓度组与阳

性药物组差异无统计学意义。TNF- $\alpha$ 表达趋势与p65一致,经阳性对照药物及桃叶珊瑚苷处理后,TNF- $\alpha$ 阳性细胞阳性细胞百分比评分在阳性药物及桃叶珊瑚苷处理后表达量减低( $P < 0.05$ ),中、高浓度组与阳性药物组相比差异均无统计学意义(图3)。

### 2.2 桃叶珊瑚苷调控NF- $\kappa$ B信号通路机制

Western blotting检测显示,与对照组相比,桃叶珊瑚苷能抑制NF- $\kappa$ B信号通路相关蛋白pP65及炎症相关蛋白IL-1的表达,并抑制MMP13的表达。桃叶珊瑚苷处理增加了软骨相关蛋白COL2和SOX9的表达( $P < 0.05$ ,图4)。

### 2.3 桃叶珊瑚苷促进软骨细胞修复

阿利新蓝-番红O染色显示,IL-1 $\beta$ 诱导的软骨细胞模型中,桃叶珊瑚苷干预后阿利新蓝及番红O染色对应的A值升高,与对照组的差异有统计学意义( $P < 0.001$ ),与氨基葡萄糖组的差异无统计学意义(图5A、B)。RT-PCR热图及PCR结果显示,与对照组相比,随着桃叶珊瑚苷浓度的增加,SOX9和COL2表达增强( $P < 0.001$ ),同时TNF- $\alpha$ 表达下降( $P < 0.05$ )(图5C、D)。与模型组相比,SOX9、COL2的基因表达在桃叶珊瑚苷组中表达增加,而TNF- $\alpha$ 基因表达降低。

## 3 讨论

KOA作为一种慢性退行性关节疾病,其病理进程与炎症反应的持续激活密切相关。滑膜炎症不仅是关节损伤的继发结果,更是驱动疾病进展的关键因素<sup>[6]</sup>。IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 等促炎细胞因子通过NF- $\kappa$ B通路介导滑膜成纤维细胞异常活化,促进MMPs分泌并诱导软骨细胞凋亡,形成“炎症-降解”的恶性循环<sup>[7]</sup>。本研究发现桃叶珊瑚苷能够抑制NF- $\kappa$ B信号通路相关蛋白p-P65及炎症相关蛋白IL-1 $\beta$ 的表达,进而抑制MMP13的表达,同时促进COL2及SOX9的表达,以此对KOA模型起到治疗作用。这一结果表明桃叶珊瑚苷作为中药单体多靶点复合作用的显著优势。与以往研究不同的是,本研究不仅证实了其抗炎作用,还发现它是一种天然的MMP13抑制剂。桃叶珊瑚苷可作用于这个关键靶点,从软骨保护层面发挥治疗作用。

尽管桃叶珊瑚苷作为一种具有潜在药理作用的物质,已有研究表明其具有抗炎和保护软骨细胞的作用<sup>[8]</sup>,但目前大多研究局限于体外实验,缺乏对其在体内作用分子机制的深入探究。本研究的重要优势之一在于进行了相对完整的体内实验,通过HE及番红-固绿染色发现,在小鼠骨关节炎模型中,桃叶珊瑚苷处理组关节软骨厚度增加,且高浓度组效果最为显著,显示了桃叶珊瑚苷在体内对骨性关节炎的抑制作用以及对膝关节软骨的保护作用。

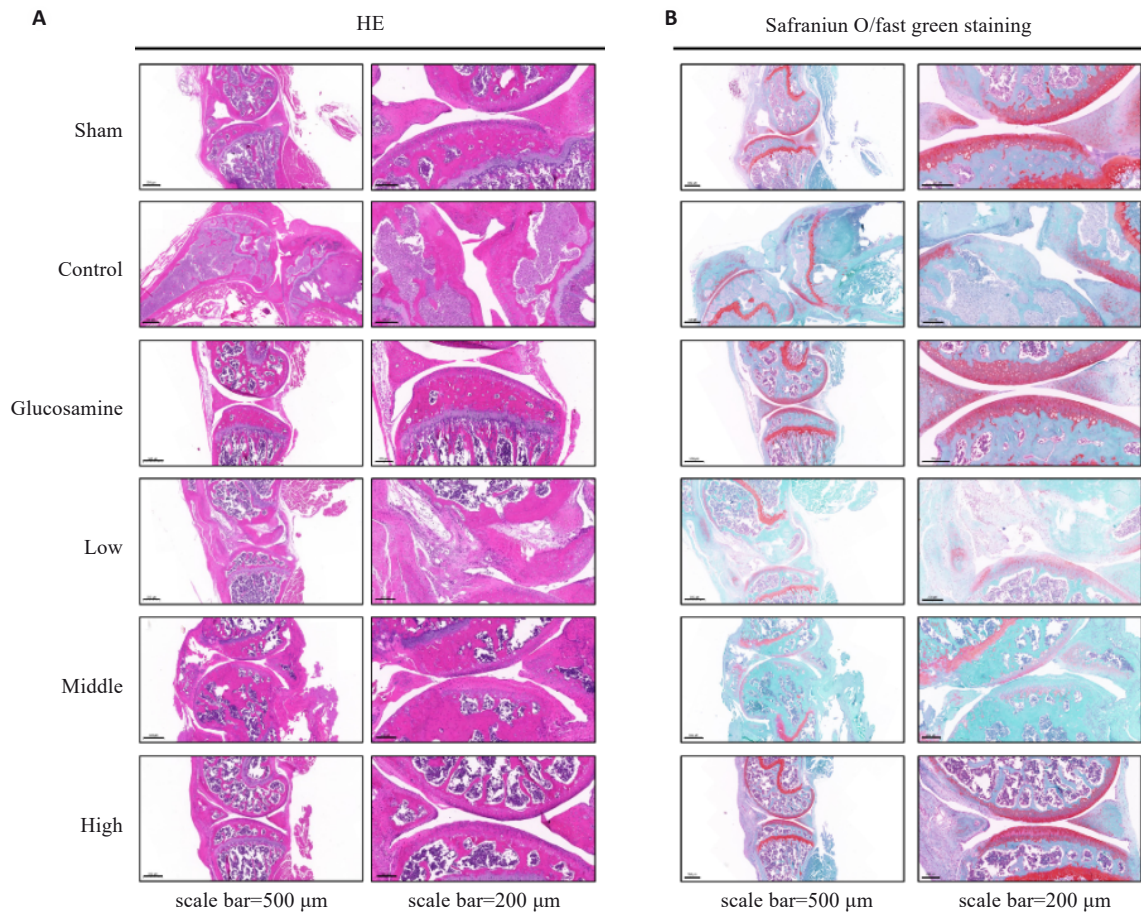


图1 膝关节软骨组织形态学分析

Fig. 1 Morphological analysis of knee joint cartilage in mice. A: HE staining. B: Safranin-O/Fast Green staining.

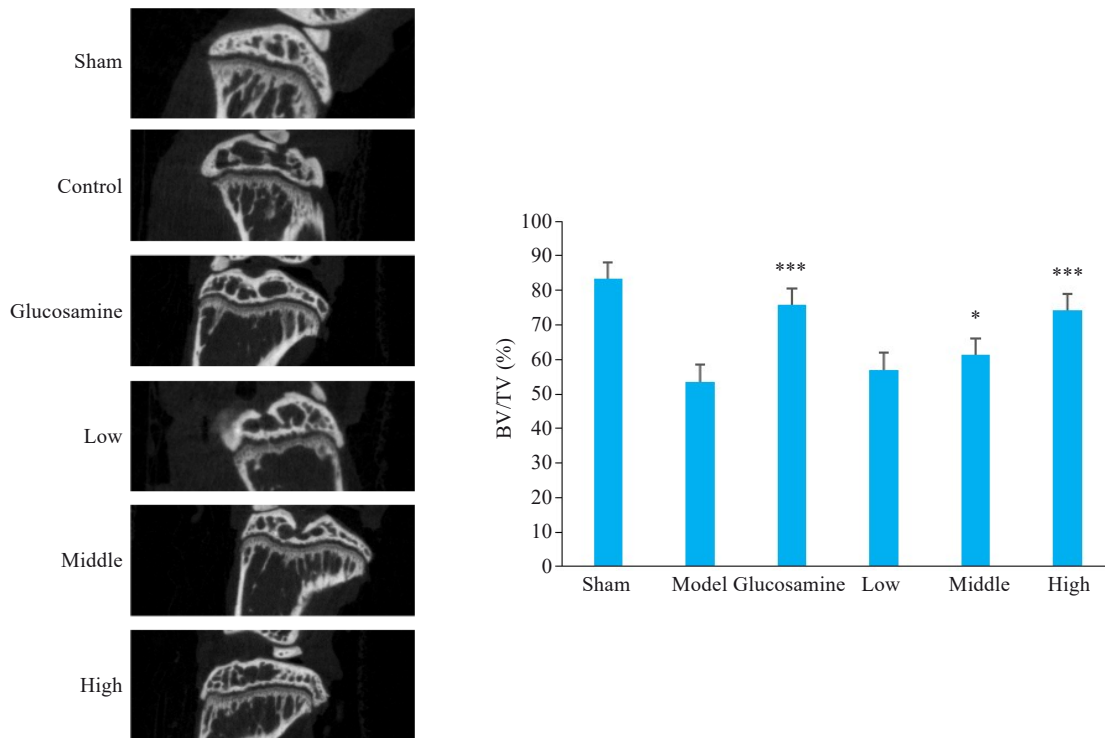


图2 软骨下骨μCT三维重建及骨密度分析

Fig.2 MicroCT 3D reconstruction and bone mineral density analysis of the subchondral bone in the mouse models. \* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs Model group.

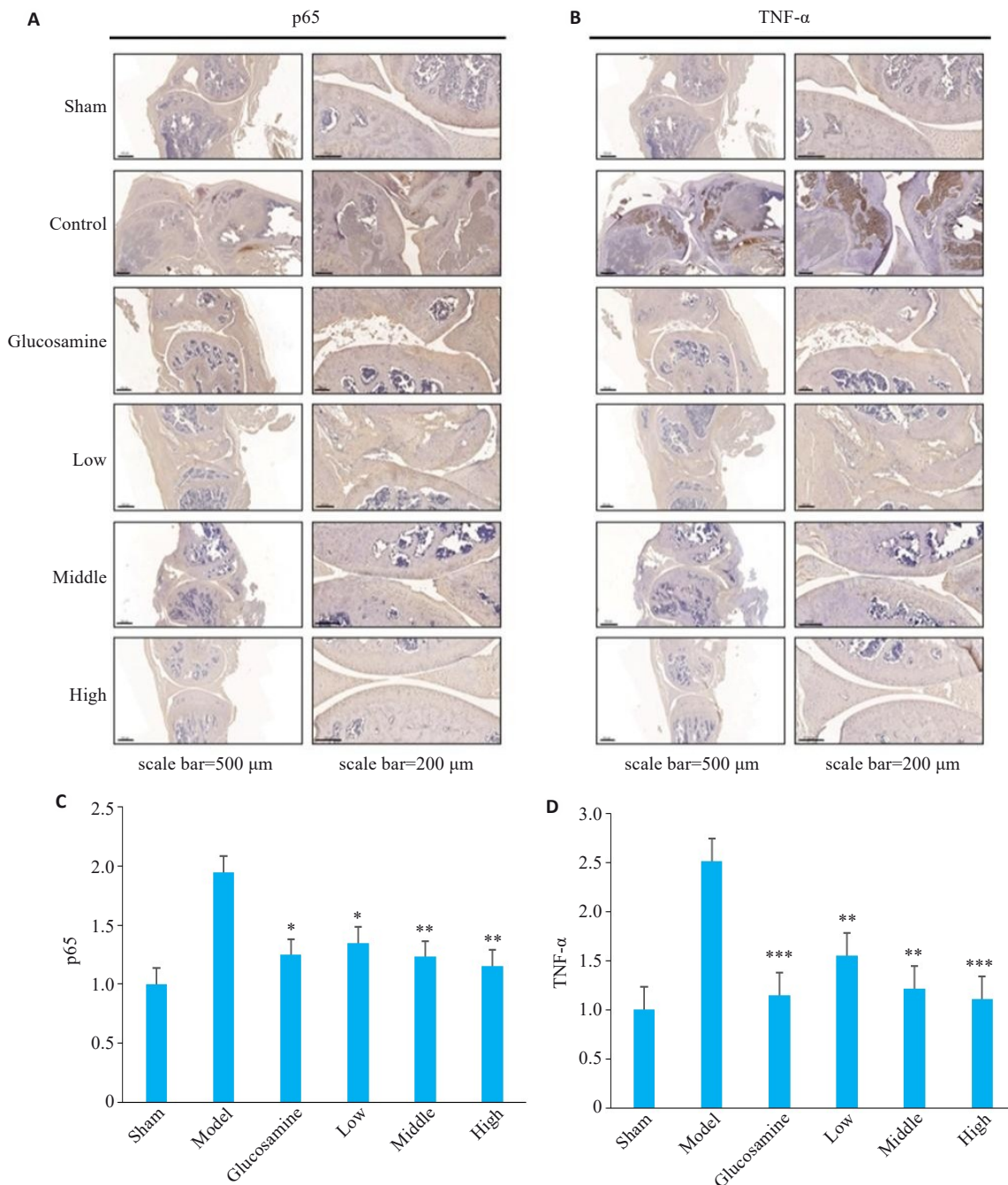


图3 炎症相关蛋白免疫组化染色

Fig.3 Immunohistochemical staining for inflammatory proteins in the cartilage tissues of the mouse models.

A: p65 staining. B: TNF- $\alpha$  staining. C, D: Quantitative analysis of p65 and TNF- $\alpha$  expression levels. \* $P$ <0.05, \*\* $P$ <0.01, \*\*\* $P$ <0.001 vs Model group.

TNF- $\alpha$ 作为一种促炎细胞因子,在许多炎症性疾病包括骨关节炎中表达增加。既往研究表明,减少TNF- $\alpha$ 的表达有助于降低关节炎的炎症反应<sup>[19]</sup>。P65是经典炎症通路NF- $\kappa$ B信号通路中的关键转录因子,其活化会导致炎症相关基因的大量表达<sup>[20]</sup>。本研究通过IHC染色发现,在小鼠骨关节炎模型中,桃叶珊瑚苷处理后降低了关节处TNF- $\alpha$ 和P65蛋白的表达。这进一步证实了桃叶珊瑚苷能通过抑制炎症相关蛋白的表达来抑制骨关节炎的发展。炎症反应在骨关节炎的发病机制中起着核心作用,持续的炎症刺激会导致软骨细胞的损伤和

凋亡,加速软骨基质的降解<sup>[21]</sup>。桃叶珊瑚苷对TNF- $\alpha$ 和P65蛋白表达的抑制,可能是其发挥抗炎作用的重要机制之一。

本研究发现桃叶珊瑚苷可以抑制NF- $\kappa$ B/MMP13信号轴,进而促进SOX9及COL2的表达,起到抗炎、促进软骨修复的作用。在肿瘤相关研究中,NF- $\kappa$ B/MMP13信号轴与肿瘤的侵袭性相关<sup>[22]</sup>。本研究首次在小鼠KOA的模型中发现了MMP13与NF- $\kappa$ B信号通路的相关性,并证实了桃叶珊瑚苷对此信号轴的抑制作用。SOX9是软骨生成的关键转录因子,COL2是主要

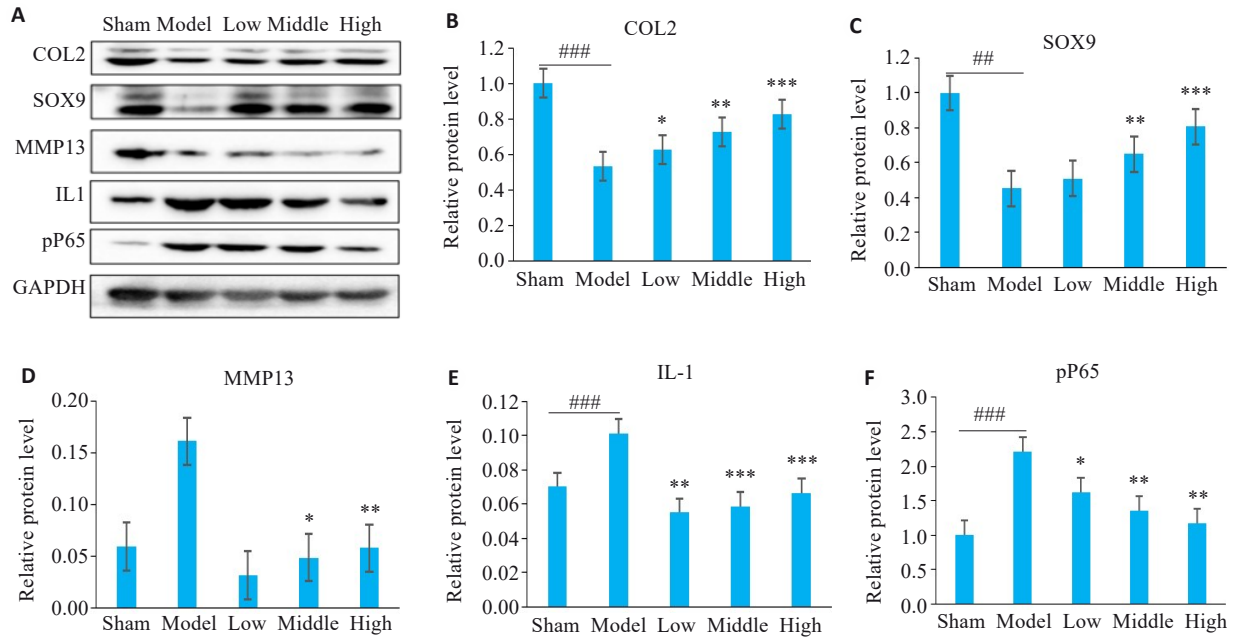


图4 蛋白表达水平的Western blotting分析

Fig. 4 Western blotting of protein expressions in the chondrocyte model. A: Representative protein blots. B-F: Quantitative analysis of p-p65/p65, MMP-13, Collagen II, SOX9, and IL-1 expression levels. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs Sham group; \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs Model group.

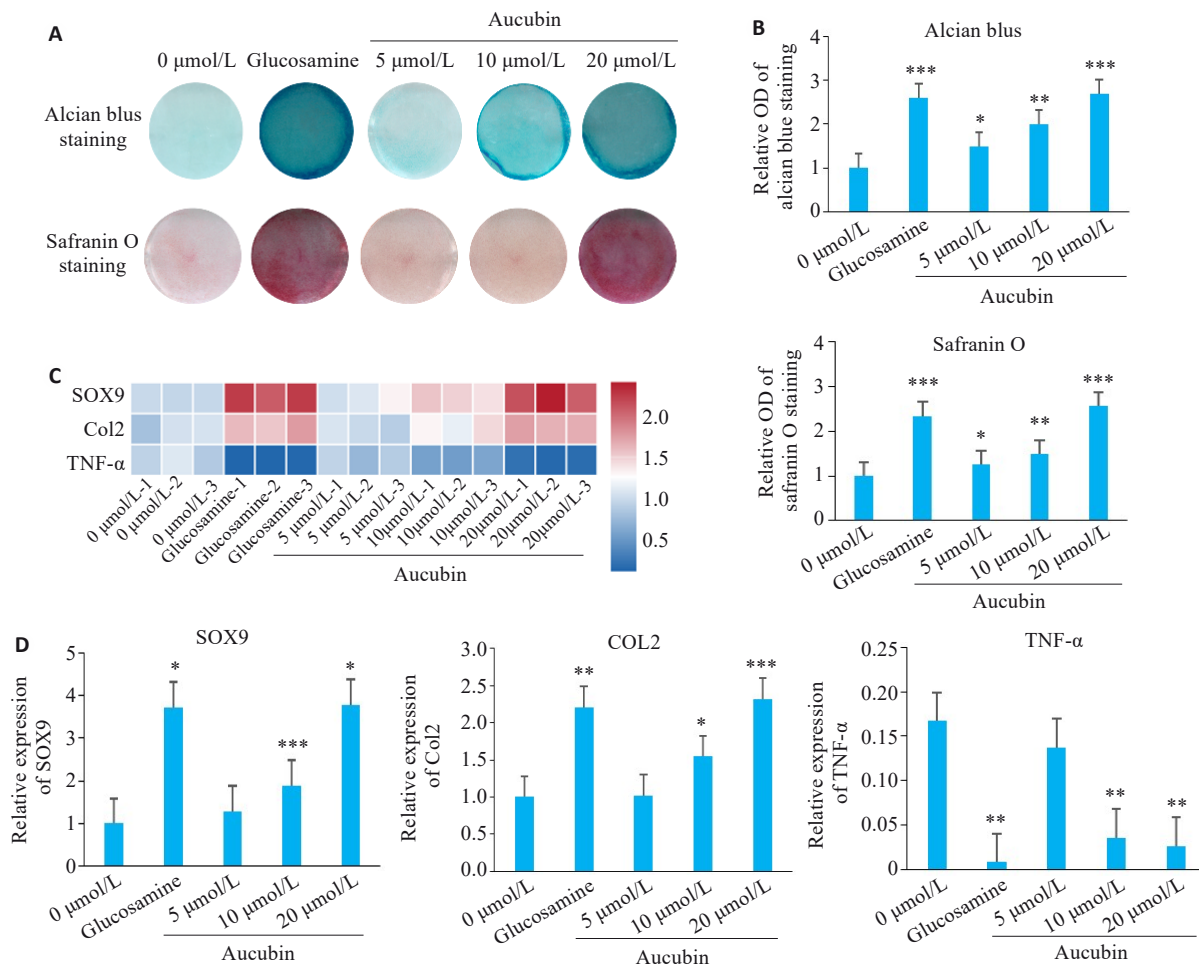


图5 桃叶珊瑚苷促进软骨细胞修复的细胞实验及软骨细胞模型相关基因表达分析

Fig.5 Alcian blue-Safranin O staining (A, B; Original magnification:  $\times 100$ ) and expressions levels of SOX9, COL2, and TNF- $\alpha$  mRNAs (C, D) in the chondrocyte model. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.005$ , \*\*\* $P < 0.001$  vs 0  $\mu\text{mol/L}$ .

的软骨胶原蛋白,其表达上调有利于关节软骨的修复<sup>[23,24]</sup>;而MMP13在软骨退化中起关键作用,抑制其表达有助于减缓软骨的降解<sup>[25]</sup>。NF- $\kappa$ B信号通路的活化在骨关节炎的发病机制中扮演重要角色,其激活会导致炎症相关基因的表达增加<sup>[26]</sup>,引发炎症细胞的浸润和促进炎症反应的发生,同时还参与了软骨的破坏过程<sup>[27]</sup>。通过抑制NF- $\kappa$ B的活化来减轻骨关节炎的病理过程是一种经典的实验方法<sup>[28,29]</sup>。本研究一方面证实了桃叶珊瑚苷能下调炎症相关指标,如IL- $\beta$ 1和TNF- $\alpha$ 的表达,与之前的研究具有一定的一致性;另一方面,本研究发现桃叶珊瑚苷还能抑制MMP13的表达进而促进SOX9和COL2的表达,增加软骨下骨骨体积分数,进一步证明了桃叶珊瑚苷可以参与调控关节软骨基质的代谢,通过抑制软骨基质降解,促进关节软骨形成从而起到修复关节软骨损伤的作用。

综上所述,桃叶珊瑚苷通过多种机制对骨关节炎产生治疗作用。首先,它通过抑制NF- $\kappa$ B信号通路,从而起到抗炎作用,能抑制TNF- $\alpha$ 和IL- $\beta$ 1等关键的促炎因子的表达,直接降低炎症反应。其次,它还能促进成软骨相关蛋白SOX9及COL2的表达,抑制软骨降解相关蛋白MMP13的表达,改善软骨下骨的骨体积分数,从而发挥促进关节软骨修复的作用。因此,桃叶珊瑚苷具有抗炎、促进软骨修复的作用,有望成为一种治疗KOA的有效单体。

**Declaration of interests:** The authors declare no competing interests.

#### 参考文献:

- [1] 叶海东,刘宇,甄朋超. 苍术素调节PINK1/Parkin信号通路对膝骨关节炎大鼠线粒体自噬的影响[J]. 微循环学杂志, 2023, 33(4): 13-20.
- [2] 陈后煌. 从Ras-Raf-MEK1/2-ERK1/2信号通路探讨电针干预膝骨关节炎软骨退变的机制[D]. 福州: 福建中医药大学, 2017.
- [3] 曾国际,郭夕语,李雨,等. 基于虚拟现实技术的康复训练对膝骨关节炎患者康复的研究进展[J]. 风湿病与关节炎, 2023, 12(10): 61-5.
- [4] Lv Z, Yang YX, Li J, et al. Molecular classification of knee osteoarthritis[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 725568.
- [5] Asehnoune K, Strassheim D, Mitra S, et al. Involvement of reactive oxygen species in Toll-like receptor 4-dependent activation of NF-kappa B[J]. J Immunol, 2004, 172(4): 2522-9.
- [6] Baldwin AS. Series introduction: the transcription factor NF-kappaB and human disease[J]. J Clin Invest, 2001, 107(1): 3-6.
- [7] Ghosh S, Hayden MS. New regulators of NF-kappaB in inflammation[J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(11): 837-48.
- [8] Nagumo Y, Kandori S, Tanuma K, et al. PLD1 promotes tumor invasion by regulation of MMP-13 expression via NF-kB signaling in bladder cancer[J]. Cancer Lett, 2021, 511: 15-25.
- [9] 朱媛,王亚琴. 桃叶珊瑚苷的研究进展[J]. 中草药, 2006, 37(6): 947-9.
- [10] 卢仁睿,张莉,王慧慧,等. 桃叶珊瑚苷通过调节小胶质细胞M1/M2极化抑制神经炎症[J]. 中国新药杂志, 2023, 32(9): 934-40.
- [11] 刁玮琳,尹敏,李翠. 桃叶珊瑚苷在烟曲霉菌角膜炎中抗炎作用及其机制[J]. 青岛大学学报: 医学版, 2023, 59(4): 501-6.
- [12] 钟子安,刘娟,杨柳,等. 基于Nox4/NLRP3通路探讨桃叶珊瑚苷干预动脉粥样硬化的作用机制[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2023, 21(13): 2405-11.
- [13] 杨雷,李兆勇,马露,等. 基于TLR4/NF- $\kappa$ B通路研究桃叶珊瑚苷联合ADSCs-exos对TBHP诱导的髓核细胞保护作用[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(19): 5294-303.
- [14] Wang SN, Xie GP, Qin CH, et al. Aucubin prevents interleukin-1 beta induced inflammation and cartilage matrix degradation via inhibition of NF- $\kappa$ B signaling pathway in rat articular chondrocytes[J]. Int Immunopharmacol, 2015, 24(2): 408-15.
- [15] Endisha H, Datta P, Sharma A, et al. microRNA-34a-5p promotes joint destruction during osteoarthritis[J]. Arthritis Rheumatol, 2021, 73(3): 426-39.
- [16] Wu Y, Li J, Zeng Y, et al. Exosomes rewire the cartilage microenvironment in osteoarthritis: from intercellular communication to therapeutic strategies[J]. Int J Oral Sci, 2022, 14(1): 40.
- [17] Wang CJ, Sun YC, Siu KK, et al. Extracorporeal shockwave therapy shows site-specific effects in osteoarthritis of the knee in rats[J]. J Surg Res, 2013, 183(2): 612-9.
- [18] Ding H, Wei J, Zhao Y, et al. Progranulin derived engineered protein Atsttrin suppresses TNF- $\alpha$ -mediated inflammation in intervertebral disc degenerative disease[J]. Oncotarget, 2017, 8(65): 109692-702.
- [19] Phillips R. Targeting articular Mmp13 in OA[J]. Nat Rev Rheumatol, 2021, 17(11): 645.
- [20] Kim HH, Kim K. Enhancement of TNF- $\alpha$ -mediated cell death in vascular smooth muscle cells through cytochrome c-independent pathway by the proteasome inhibitor[J]. FEBS Lett, 2003, 535(1/2/3): 190-4.
- [21] Li JJ, Johnson AR. Selective MMP13 inhibitors[J]. Med Res Rev, 2011, 31(6): 863-94.
- [22] Etoh T, Inoue H, Yoshikawa Y, et al. Increased expression of collagenase-3 (MMP-13) and MT1-MMP in oesophageal cancer is related to cancer aggressiveness[J]. Gut, 2000, 47(1): 50-6.
- [23] Geng R, Li J, Yu C, et al. Knee osteoarthritis: Current status and research progress in treatment (Review)[J]. Exp Ther Med, 2023, 26(4): 481.
- [24] Song X, Liu Y, Chen S, et al. Knee osteoarthritis: a review of animal models and intervention of traditional Chinese medicine[J]. Animal Model Exp Med, 2024, 7(2): 114-26.
- [25] Mahida JP, Antczak C, Decarlo D, et al. A synergetic screening approach with companion effector for combination therapy: application to retinoblastoma[J]. PLoS One, 2013, 8(3): e59156.
- [26] Ben-Neriah Y, Karin M. Inflammation meets cancer, with NF- $\kappa$ B as the matchmaker[J]. Nat Immunol, 2011, 12(8): 715-23.
- [27] Natoli G, Chiocca S. Nuclear ubiquitin ligases, NF- $\kappa$ B degradation, and the control of inflammation[J]. Sci Signal, 2008, 1(1): 1103-12.
- [28] Zhong ZY, Umemura A, Sanchez-Lopez E, et al. NF- $\kappa$ B restricts inflammasome activation via elimination of damaged mitochondria[J]. Cell, 2016, 164(5): 896-910.
- [29] Xie ZB, Chen KM, Huang CW, et al. Correlation between macrophage chemotaxis and disease severity in patients with knee osteoarthritis[J]. Zhongguo Gu Shang, 2023, 36(6): 514-8.

(编辑:林萍)