

骨关节炎临床观察[J]. 中医临床研究, 2020, 12(15): 70-72.

[7] 吴以岭. 中医络病学说与三维立体网络系统[J]. 中医杂志, 2003, 5(6): 407-409.

[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020. 322.

[9] 钟赣生. 中药学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2012.

[10] 罗 春, 马红霞, 潘赐明. 基于数据挖掘分析多囊卵巢综合征不孕症用药和选穴规律[J]. 新疆医科大学学报, 2024, 47(1): 113-120.

[11] Csardi G, Nepusz T. The igraph software package for complex network research[C] //InterJournal, Complex Systems, 2006, 1695: 1-9.

[12] 段 航, 王林华, 邝高艳, 等. 卢敏教授基于“虚毒瘀”理论治疗膝关节滑膜炎的临床经验[J]. 河北中医, 2024, 46(1): 8-11; 16.

[13] 徐艺峰, 王忆勤, 郝一鸣. 赋苔古今研究评述[J]. 中华中医药杂志, 2021, 36(12): 6993-6996.

[14] 何梦吟, 祝韵薇, 鲁 盈. 舌象与原发性痛风炎症活动度

关系的临床研究[J]. 中国中医急症, 2019, 28(8): 1327-1330.

[15] 崔家康, 陈 晓, 姜 泉, 等. 湿热证黄腻苔与类风湿关节炎的相关性探析[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(7): 1419-1421.

[16] 王顺华, 戴致波, 邢增宇, 等. 戴致波治疗膝关节滑膜炎经验[J]. 湖南中医杂志, 2020, 36(9): 28-29; 54.

[17] 李格格, 马铁明, 李 亿. 膝关节滑膜炎中医辨证中存在的问题与对策[J]. 中医学报, 2019, 34(9): 1869-1872.

[18] 曹 雯, 孙洪平, 曹 琳, 等. 四妙散的临床运用及作用机制[J]. 吉林中医药, 2017, 37(10): 976-979.

[19] 姜 楠, 潘赐明, 赵 黎. 李氏当归补血汤治疗血虚发热再议[J]. 现代中医药, 2019, 39(4): 5-6; 32.

[20] 王文越, 刘 珊, 吕 琴, 等. 黄芪-当归药对益气活血药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(6): 207-216.

[21] 王馨慧, 王苏童, 吕穆杰, 等. 黄芪桂枝五物汤调节 M1/M2 巨噬细胞改善炎症反应的分子机制研究[J]. 北京中医药大学学报, 2023, 46(6): 801-810.

基于 Wnt/ β -catenin 信号通路探讨艾比外吉吾里木法斯里对骨关节炎大鼠软骨损伤的保护作用

李晶晶¹, 陈 伟², 马 芹³, 刘 利³, 田冬梅³, 兰 卫^{1*}, 武嘉林^{3*}
(1. 新疆医科大学中医学院, 新疆 乌鲁木齐 830017; 2. 兵团骨健康中医药研发重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011; 3. 新疆华世丹药物研究有限责任公司, 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要: **目的** 探讨维药艾比外吉吾里木法斯里对骨关节炎模型大鼠软骨损伤的保护作用。**方法** 大鼠随机分为模型组、硫酸氨基葡萄糖组 (157.5 mg/kg) 和艾比外吉吾里木法斯里低、中、高剂量组 (0.84、2.52、5.04 g/kg), 采用膝关节腔内注射碘乙酸溶液结合浸泡冷水方式建立大鼠寒湿痹阻型骨关节炎模型, 灌胃给药 21 d 后进行大鼠膝关节 Lequesne MG 评分; Micro CT 扫描成像并检测骨小梁微结构参数; HE 与 SF 染色观察大鼠膝关节软骨组织病理学变化; Western blot 法检测膝关节软骨组织中 Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 各给药组大鼠 Lequesne MG 评分均降低 ($P<0.05$); 艾比外吉吾里木法斯里高剂量组骨微结构改善, BMD、BV/TV、Tb. N 值升高 ($P<0.05$), Tb. Sp 值降低 ($P<0.05$); 硫酸氨基葡萄糖组和艾比外吉吾里木法斯里中、高剂量组膝关节软骨组织 Wnt5a、 β -catenin、MMP-13 蛋白表达降低 ($P<0.05$)。**结论** 艾比外吉吾里木法斯里能够减轻软骨损伤, 改善骨微结构, 抑制骨关节炎炎症, 其作用可能与抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活有关。

关键词: 艾比外吉吾里木法斯里; 维药; 骨关节炎; 寒湿痹阻型; 软骨损伤; 骨微结构; Wnt/ β -catenin 信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)12-4139-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.12.039

收稿日期: 2024-07-05

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFC1703901); 新疆维吾尔自治区重大专项 (2022A03017-2); 兵团科技创新人才计划 (2023CB002); 新疆中药民族药物物质基础研究创新团队项目 (2023CB002)

作者简介: 李晶晶, 女, 硕士生, 研究方向为中药药理学。E-mail: jing1211@aliyun.com

* 通信作者: 兰 卫, 男, 博士, 教授, 研究方向为中药药理学。Tel: (0991) 2110289, E-mail: 641059126@qq.com
武嘉林, 男, 硕士, 正高级工程师, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: 13909911268@139.com

骨关节炎（osteoarthritis, OA）是一种以关节软骨的结构缺损、软骨下骨丢失、滑膜组织增生和肌腱韧带不稳定为特征的慢性退行性致残疾病^[1]。OA 的发病率在全世界范围内呈现上升趋势，受人口老龄化程度和日益严重的肥胖现象影响，OA 逐渐发展成为常见的致残疾病^[2]。目前 OA 临床治疗药物主要有对乙酰氨基酚、非甾体抗炎药等症状改善药物和硫酸氨基葡萄糖等疾病治疗药物，但可能会导致肝肾损伤、恶心呕吐、腹泻和骨痛等严重不良反应，而且无法逆转 OA 病理发展进程^[3]。因此，开发能够显著改善 OA 症状、有效防治 OA 的药物成为当前药学研究的热点与难点。

骨关节炎在中医学诊疗分类中属于“痹症”“骨痹”范畴，其病因病机主要是在于肝肾不足的基础上外加邪气侵袭^[4]。即以肝肾精血亏虚为本，加之邪气乘虚侵袭关节为标。传统中药多采用补肝肾、益精血、祛风除湿、散寒通络、活血化瘀、调和气血等方法，通过改善关节经络不通与血脉凝滞治疗 OA。

艾比外吉吾里木法斯里收录于国家中医药管理局发布的《古代经典名方目录（第二批）》维医药卷中^[5]，是能够缓解疼痛、改善骨关节炎症状的唯一方剂。此方出自维医经典古籍《提比·艾克拜尔》中，用于“治疗异常黏液质和异常胆液质混合所致关节疼痛”，由芦荟、秋水仙、诃子、玫瑰花、薰鲁香 5 味药材组成，在传统维医治疗骨关节炎的二百多年临床实践中，疗效确切，但作用机制尚不明确。因此，本实验拟建立寒湿痹阻型 OA 大鼠模型，观察药物对 OA 大鼠的影响，探究其作用机制，为临床应用提供理论依据，也为维药古代经典名方的传承与开发提供借鉴与参考。

1 材料

1.1 动物 60 只 8 周龄雄性 SD 大鼠购自新疆医科大学动物实验中心 [实验动物生产许可证号 SCXK（新）2019-002]，饲养于新疆华世丹药物研究有限责任公司动物实验室，环境温度（25±2）℃，相对湿度（60±5）%，12 h 光照/12 h 黑暗交替，自由饮水摄食。实验通过新疆华世丹药物研究有限责任公司动物实验室伦理审查委员会批准（伦理批准号 20230007-HSD）。

1.2 药物 芦荟、玫瑰花瓣（批号 K30038803、H30018002，新疆麦迪森药业有限公司）；秋水仙（批号 230301，安徽鑫泰药业有限公司）；诃子（批号 YL-180-2207013，安徽新盛中药饮片有限公司）；薰鲁香（批号 230301，亳州市庆丰余堂中药饮片有限责任公司），以上 5 味药材经新疆维吾尔自治区药物研究所何江研究员鉴定为正品。艾比外吉吾里木法斯里药物按照处方量“芦荟（库西提）1 带尔海木，秋水仙（炒制）、诃子（炒黄）各 1/2 米斯卡尔，玫瑰花瓣、薰鲁香（醋制）各 1/2 马夏”，由新疆华世丹药物研究有限责任公司实验室制备（批号 20230510）；硫酸氨基葡萄糖胶囊（批号 7TT0202，信东生技股份有限公司）。

1.3 试剂 碘乙酸钠（批号 J26GS149832，上海源叶生物科技有限公司）；0.9%生理盐水（批号 281221-03，新疆华世丹药业股份有限公司）；苏木素伊红染色试剂盒、高效 RIPA 裂解液、4×蛋白上样缓冲液、5×Tris-甘氨酸电泳缓冲液、10×电转液（批号 20230202、2305001、20221101、2305001、2307002JH，北京索莱宝科技有限公司）；番红-固绿骨组织染色套装（批号 G1053，武汉赛维尔生物科技有限公司）；10% SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒（批号 WB2102，北京博泰斯生物技术有限公司）；BCA 蛋白浓度测定试剂盒、Wnt5a 抗体、β-catenin 抗体、MMP-13 抗体、β-actin 抗体、ECL 化学发光试剂盒（批号 18G24C46、ZP480BP80、10A98、23BP18D20、BM3878、AR1171，武汉博士德生物工程有限公司）；HRP 标记二抗（批号 2B-2301，北京中杉金桥生物技术有限公司）；乙二胺四乙酸二钠（批号 20200305，上海山浦化工有限公司）；二甲苯（批号 10023418，国药集团化学试剂有限公司）；甲醇（批号 20230601，天津市北联精细化学品开发有限公司）；无水乙醇（批号 20230105，天津市百世化工有限公司）。

1.4 仪器 酶标仪、蛋白电泳仪器系统（型号 Model 680、170-4500，美国 Bio-Rad 公司）；病理切片机（型号 RM2016，上海徕卡仪器有限公司）；正置光学显微镜（型号 ECLIPSE E100，日本尼康公司）；电脑相衬生物显微镜（型号 BM-20APHDBM，上海彼爱姆光学仪器制造有限公司）；冷冻高速离心机（型号 TGL-16M，上海卢湘仪离心机仪器有限公司）；IVC 笼具系统（型号 IVC-30，上海天环科技发展有限公司）；电泳仪电源（型号 DYY-6D，北京六一生物科技有限公司）；蛋白质印迹分子成像系统（型号 600 型，美国 Azure Biosystems 公司）；Micro CT 扫描仪（型号 SkyScan1176，德国 Bruker 公司）

2 方法

2.1 造模 大鼠适应性喂养 1 周后开始造模，将大鼠随机分为正常组（10 只）和造模组（50 只）。造模组大鼠每天于左膝关节髌骨下中间偏外侧关节间隙斜 45°推入 50 μL 碘乙酸钠溶液（60 g/L）进行造模^[6]，并于 4℃冷水中没过膝关节 30 min^[7]，取出于暖风机旁烘干毛发后入笼。正常组给予等量生理盐水，共 14 d。

2.2 给药干预 造模结束后的大鼠随机分为模型组、硫酸氨基葡萄糖组（157.5 mg/kg）和艾比外吉吾里木法斯里低、中、高剂量组（0.84、2.52、5.04 g/kg），每组 10 只。正常组和模型组给予等体积 0.9%生理盐水，于造模后第 2 天开始灌胃给药，连续 21 d，每天观察大鼠状态并监测体质量。

2.3 行为学 Lequesne MG 评分 给药前后，依据 Lequesne MG 评分标准，分别从大鼠局部疼痛程度、步态改变、关节肿胀程度以及关节活动度 4 个方面进行行为学评价，总评分为 4 个指标之和^[8]，评分标准见表 1。

2.4 Micro-CT 扫描与分析 给药结束后处死大鼠，打开其患侧关节腔，剥离关节组织置于 10%甲醛溶液中固定，进

表 1 Lequesne MG 评分标准

评价指标	表现	评分/分
大鼠疼痛程度	无疼痛	0
	患肢出现收缩	1
	患肢收缩且伴有轻度全身反应	2
	患肢收缩伴有全身颤抖乃至挣扎	3
步态	正常行走	0
	轻度跛行,患肢触地有力	1
	患肢跛行,但跛行明显	2
	患肢不能参与行走	3
关节肿胀程度	无肿胀	0
	轻度肿胀,骨性标记线变浅	1
	重度肿胀,骨性标记线消失	2
关节活动范围	关节活动>90°,且无明显疼痛反应	0
	关节活动 45°~90°,且无明显疼痛反应	1
	关节活动 15°~44°,且无明显疼痛反应	2
	关节活动<15°,且无明显疼痛反应	3

行 Micro-CT 扫描,分辨率 18 μm,扫描图像导入 CTVOX 软件三维重建,并测量骨密度 (bone mineral density, BMD)、骨体积分数 (bonevolume/tissue volume, BV/TV)、骨小梁分离度 (trabecular separation, Tb. Sp)、骨小梁数量 (trabecular Number, Tb. N) 等参数。

2.5 苏木素-伊红 (HE) 和番红固绿 (SF) 染色观察大鼠膝关节组织病理变化 将大鼠膝关节组织置于 10% EDTA 中脱钙 6 周,切取关节软骨后修整成约 0.5 cm³ 大小的块状,使用梯度乙醇脱水,二甲苯透明,浸蜡后石蜡包埋,组织切片、烤片,将切片脱蜡、复水后进行 HE 与 SF 染色,并于显微镜下观察切片的形态学特征。

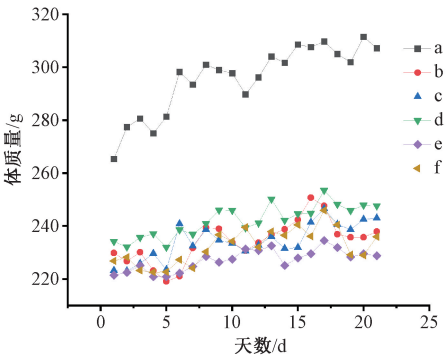
2.6 Western blot 法检测关节软骨组织 Wnt5a、β-catenin、MMP-13 蛋白表达 提取大鼠膝关节软骨组织总蛋白并定量,蛋白质水浴煮沸变性后,使用 SDS-PAGE 电泳分离目标蛋白并转至 PVDF 膜上,用 5% 脱脂奶粉溶液封闭过夜,放入预先稀释好的兔抗鼠一抗溶液中 (稀释比例为 1 : 2 000),37 ℃ 孵育 2 h,再用羊抗兔二抗稀释液 (稀释比例为 1 : 5 000) 在室温下避光孵育 1.5 h, ECL 化学发光法显影,以 β-actin 为内参蛋白,通过 ImageJ 软件分析目的蛋白表达情况。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 27.0.1 软件进行处理,计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间均数比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠一般状态与体质量变化 造模 1 d 后,大鼠注射部位肿胀严重,活动明显减少,患肢不能着地,至 14 d 仍然跛行严重。给药 5 d 后,各给药组大鼠患肢肿胀程度有所改善,但活动受限,触地跛行伴无力、局部疼痛现象仍然存在。随着给药时间的延长,至给药 21 d 后,各给药组大鼠跛行、触地疼痛等症状均有不同程度的改善。给药期间每天测量大鼠体质量,绘制体质量变化图,见图 1。

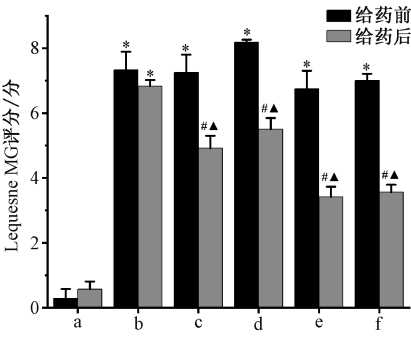
3.2 艾比外吉吾里木法斯里对 OA 大鼠行为学的影响 造模后,模型组、硫酸氨基葡萄糖组和艾比外吉吾里木法斯里各剂量组大鼠 Lequesne MG 评分均高于正常组 ($P <$



注: a 为正常组, b 为模型组, c 为硫酸氨基葡萄糖组, d~f 分别为艾比外吉吾里木法斯里低、中、高剂量组。

图 1 给药 21 d 大鼠体质量变化趋势图

0.01)。OA 模型大鼠表现为关节部位疼痛、肿胀、步态改变、关节活动受限,符合临床 OA 病理学特点。给药后,硫酸氨基葡萄糖组和艾比外吉吾里木法斯里各剂量组评分均低于模型组 ($P < 0.05$),且均低于同组给药前 ($P < 0.05$),见图 2。结果提示,艾比外吉吾里木法斯里能够缓解疼痛,改善 OA 大鼠关节肿胀状态和关节活动范围。

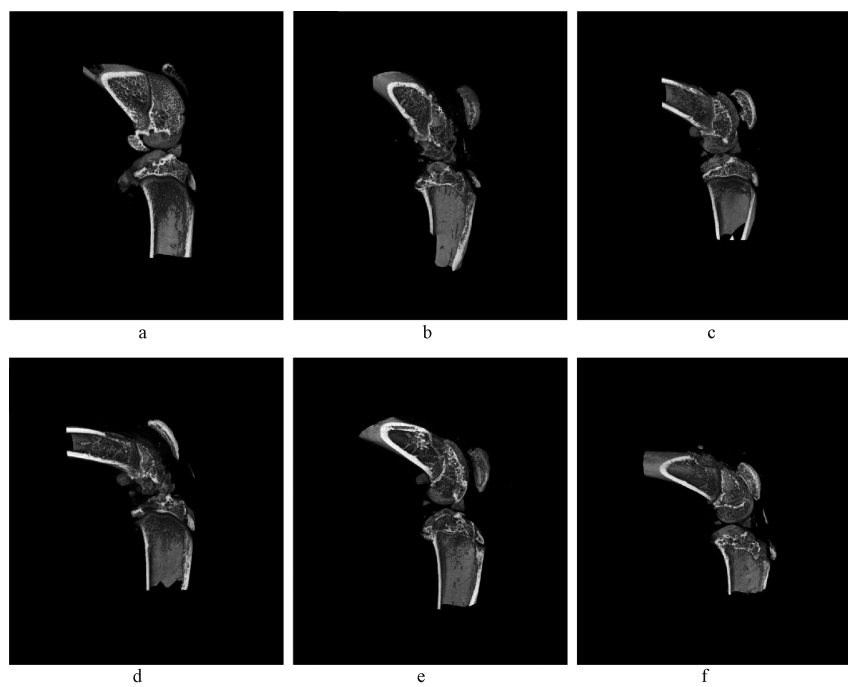


注: a 为正常组, b 为模型组, c 为硫酸氨基葡萄糖组, d~f 分别为艾比外吉吾里木法斯里低、中、高剂量组。与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$;与同组给药前比较,▲ $P < 0.05$ 。

图 2 各组大鼠给药前后 Lequesne MG 评分比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

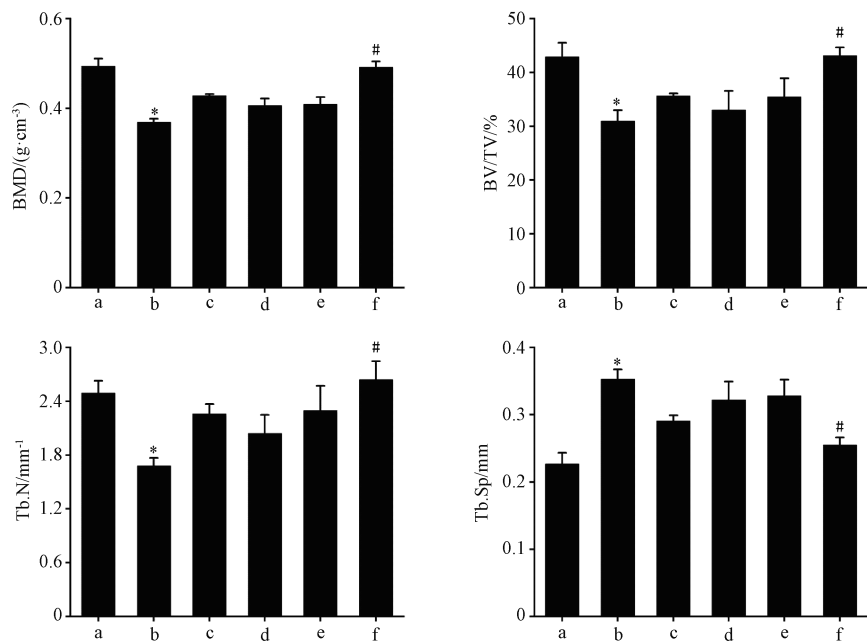
3.3 艾比外吉吾里木法斯里对 OA 大鼠骨微结构的影响 Micro-CT 三维成像结果显示,正常组关节表面光滑;与正常组比较,模型组可见关节间隙变窄,软骨下骨和骨小梁的微结构恶化,出现表面不规则、凹陷等损伤退化;各给药组软骨损伤情况均有所缓解,见图 3。

骨小梁参数检测结果显示,与正常组比较,模型组大鼠 BMD、BV/TV、Tb. N 值降低 ($P < 0.05$),Tb. Sp 值升高 ($P < 0.05$),表明造模后大鼠骨小梁骨量减少,骨强度下降,骨微结构遭到破坏;与模型组比较,艾比外吉吾里木法斯里高剂量组大鼠 BMD、BV/TV、Tb. N 值升高 ($P < 0.05$),Tb. Sp 值降低 ($P < 0.05$),低、中剂量组和硫酸氨基葡萄糖组 BMD、BV/TV、Tb. N 值升高,Tb. Sp 值降低,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果提示,艾比外吉吾里木法斯里能够增加 OA 大鼠骨量,且高剂量作用显著,见图 4。



注：a 为正常组，b 为模型组，c 为硫酸氨基葡萄糖组，d~f 分别为艾比外吉吾里木法斯里低、中、高剂量组。

图 3 各组大鼠膝关节 Micro-CT 图



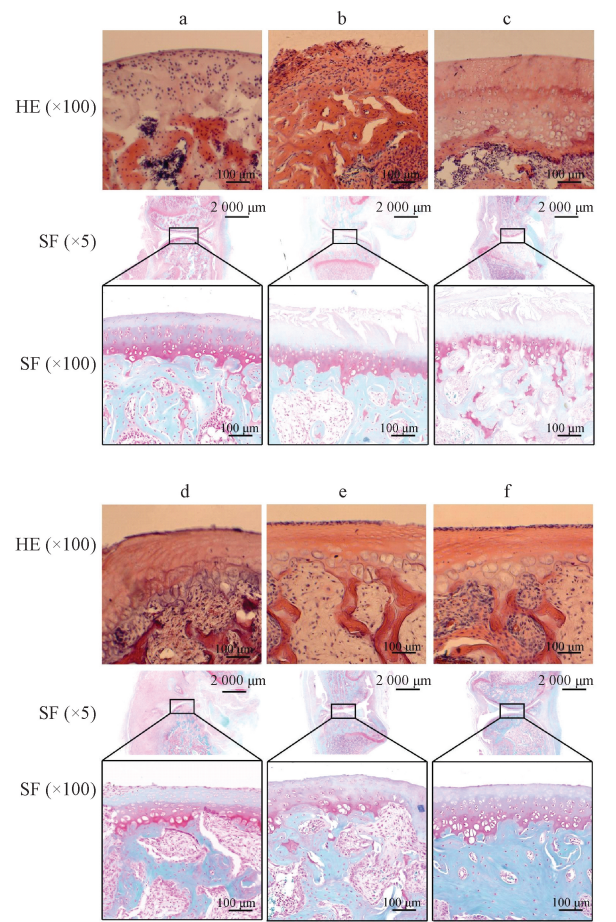
注：a 为正常组，b 为模型组，c 为硫酸氨基葡萄糖组，d~f 分别为艾比外吉吾里木法斯里低、中、高剂量组。与正常组比较，* $P<0.05$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ 。

图 4 各组大鼠骨小梁参数比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3.4 艾比外吉吾里木法斯里对 OA 大鼠软骨组织病理形态的影响 HE 染色显示，细胞核呈紫蓝色，细胞质呈现红色；SF 染色显示，软骨呈红色，软骨下骨为蓝色。正常组软骨组织未见裂隙，各细胞层分布均匀，表面完整无缺损；模型组大鼠关节软骨损伤明显，软骨变薄，表层粗糙且有缺损，软骨细胞排列不规则，有浅裂隙，此外还可见炎性细胞聚集与浸润；硫酸氨基葡萄糖组软骨变薄，表层软骨

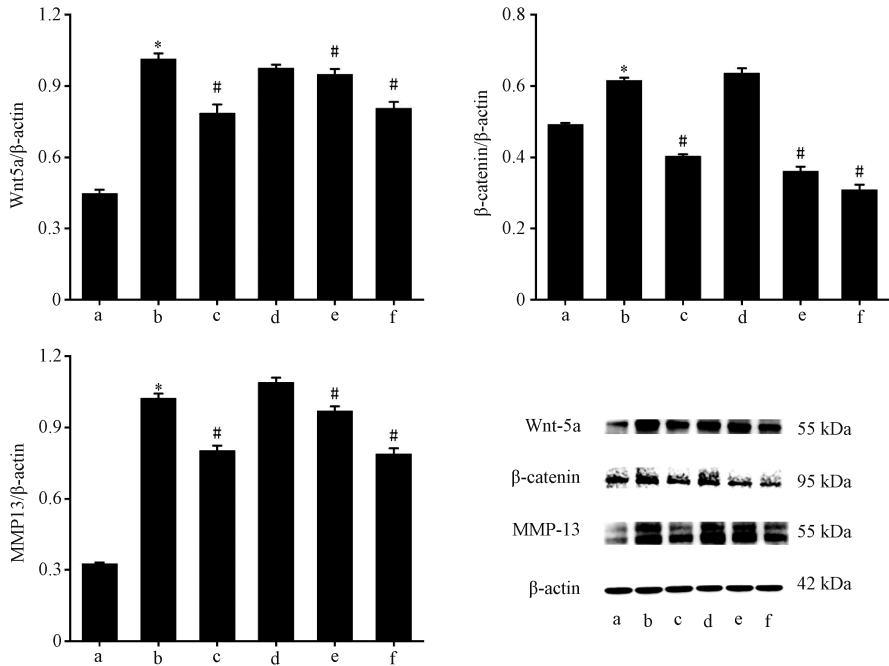
细胞数量减少且排列略显混乱；艾比外吉吾里木法斯里各剂量组大鼠软骨损伤减轻，软骨细胞排列较模型组整齐，软骨陷窝空泡减少，炎性细胞聚集减少，见图 5。

3.5 艾比外吉吾里木法斯里对 OA 大鼠关节软骨组织 Wnt5a、 β -catenin、MMP-13 蛋白表达的影响 与正常组比较，模型组 Wnt5a、 β -catenin、MMP-13 蛋白表达均升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，硫酸氨基葡萄糖组和艾比外吉



注：a 为正常组，b 为模型组，c 为硫酸氨基葡萄糖组，d~f 分别为艾比外吉吾里木法斯里低、中、高剂量组。

图 5 各组大鼠软骨组织 HE 与 SF 染色



注：a 为正常组，b 为模型组，c 为硫酸氨基葡萄糖组，d~f 分别为艾比外吉吾里木法斯里低、中、高剂量组。与正常组比较，* $P<0.05$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ 。

图 6 各组大鼠膝关节软骨组织 Wnt5a、β-catenin、MMP-13 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

吾里木法斯里中、高剂量组 Wnt5a、β-catenin、MMP-13 表达降低 ($P<0.05$)，见图 6。

4 讨论

维吾尔医药属于我国传统医药的重要组成部分，是新疆各民族通过长期摸索、应用实践而总结形成的宝贵财富。新疆冬季漫长，气候严寒，加之受到农牧民游牧的生活方式影响，OA 高发，对 OA 的治疗属于维吾尔医药的优势病种。维吾尔医学将骨关节疾病（膝关节努合热斯）归属于“外吉欧力再合日”（腰背痛）和“外吉欧力开台尼”（腰痛）范畴。传统辨证将 OA 分为异常黏液质型和异常黑胆质型^[9]，体内赛危大依海日台比依（异常黑胆质）和石灰样白里海密（石灰样黏液质）增多并停留在关节脉管、骨膜内，刺激关节软骨增生^[10]，降低骨骼的库外依提那密业（生长力）、库瓦依提台比业（营养力）和库外依提木色维热（成形力），造成关节软骨磨损与破坏，形成骨性关节炎。表现为关节部位疼痛、僵硬，活动障碍，伴骨摩擦音，关节腔积液及畸形等症^[11]，在治疗上强调调节整体体液平衡，增强骨骼自然力。

艾比外吉吾里木法斯里组方中，秋水仙三级干热，味苦，生干生热，祛风止痛，消炎退肿，通阻除黄，祛寒助阳为君药；芦荟苦寒泻下清肝，去除异常胆液质，且中和秋水仙之肝胃热毒为臣药；薰鲁香消散胃中寒气，补脑养心，利肝益肾，中和秋水仙之热毒为佐药；玫瑰花瓣散风消炎，安神止痛同为佐药；诃子入肺、肝、脾、肾、大肠五经，炒制后热性加强，引药入经，为使药。现代药理学研究表明，秋水仙中的主要成分秋水仙碱能抑制炎症细胞因子诱导的 PLC-γ1 磷酸化，降低 MMP-13 表达和软骨降

解^[12]，具有抗炎作用。芦荟中芦荟苷在体内外能抑制炎症因子的表达和释放，减缓软骨细胞外基质的降解^[13]，通过调控抑制 PI3K/Akt/NF-κB 信号传导来改善骨关节炎进程^[14]；芦荟大黄素能抑制破骨细胞增殖分化，保护骨质疏松模型小鼠的骨量^[15]。本研究发现，艾比外吉吾里木法斯里给药后，大鼠关节肿胀度、疼痛程度与炎症症状得到缓解；软骨损伤缓解，炎性细胞聚集与浸润减轻，软骨细胞形态修复；骨小梁骨量与骨强度有所增加，骨微结构损伤有所改善，说明艾比外吉吾里木法斯里在一定程度上修复了软骨损伤。

关节软骨细胞代谢异常的特征是细胞外基质（extracellular matrix, ECM）的损伤，基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinases, MMPs）的过度表达会导致 ECM 组分蛋白多糖和胶原的降解^[16]，ECM 的降解速度超过合成速度，导致软骨细胞凋亡，损伤关节软骨。MMPs 参与软骨的退化过程，诱导软骨细胞表型的丧失与凋亡^[17]。其中 MMP-13 是 OA 发生发展的主要胶原酶，其表达增加会导致 II 型胶原蛋白的降解，诱导软骨细胞凋亡^[18]。

Wnt/β-catenin 信号通路在软骨细胞各生长阶段均发挥重要调节作用，Wnt5a 刺激成骨细胞分泌白细胞介素-6 使破骨细胞的数量增加，增加骨的吸收^[19]，分泌促炎因子及促使 MMPs 产生而引起炎症反应，在 OA 患者软骨中 Wnt5a 的表达升高^[20]。β-catenin 是 Wnt 信号通路中的中心分子，对软骨细胞分化、增殖、肥大和凋亡均起重要作用^[21]。Wnt 配体与受体结合，抑制 β-catenin 的磷酸化和降解，β-catenin 在细胞质中累积，随后易位到细胞核中，激活下游靶基因的转录^[22]。在 OA 模型中可以观察到，Wnt/β-catenin 信号通路的激活会刺激炎性因子、凋亡因子和 MMPs 的过表达，而抑制 Wnt/β-catenin 通路可减少软骨细胞凋亡和软骨降解^[23]。黄璐等^[24]研究发现，加味独活寄生合剂可调控膝骨关节炎兔模型中软骨细胞 Wnt/β-catenin 信号通路，下调 Wnt3a 与 β-catenin 蛋白表达，减少软骨细胞凋亡，促进关节软骨的增殖与修复。因此，本研究选择 Wnt/β-catenin 信号通路进一步验证艾比外吉吾里木法斯里治疗 OA 的机制，结果显示，艾比外吉吾里木法斯里抑制了 Wnt/β-catenin 通路中关键蛋白 Wnt5a 和 β-catenin 的激活，进而抑制下游 MMP-13 的表达，抑制软骨分解，缓解骨损伤，且高剂量的效果优于中、低剂量。

综上所述，艾比外吉吾里木法斯里能够缓解 OA 关节肿胀、疼痛症状，改善软骨损伤和关节组织的病变程度，抑制骨分解代谢，其可能通过抑制 Wnt/β-catenin 信号通路的激活，减少 ECM 的降解，抑制骨损伤与破坏，但仍需要进行进一步研究确证。

参考文献：

[1] Yao Q, Wu X, Tao C, *et al.* Osteoarthritis: pathogenic signaling pathways and therapeutic targets [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 56.

[2] Hunter D J, March L, Chew M. Osteoarthritis in 2020 and 4144

beyond: a Lancet Commission[J]. *Lancet*, 2020, 396(10264): 1711-1712.

[3] 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.

[4] 陈卫衡. 膝关节关节炎中医诊疗指南（2020 年版）[J]. 中医正骨, 2020, 32(10): 1-14.

[5] 佚名.《古代经典名方目录（第二批）》发布[J]. 中医药管理杂志, 2023, 31(17): 17.

[6] 闵亚林, 姜思羽, 吴迪生, 等. 丹参水提液对碘乙酸钠所致大鼠骨关节软骨退变的预防作用[J]. 中国药理学通报, 2019, 35(4): 478-483.

[7] 孙力威, 周文静, 赵子苇, 等. 黄芪桂枝五物汤对阳虚寒凝型骨关节炎疼痛作用的实验研究[J]. 山西中医药大学学报, 2020, 21(1): 18-22.

[8] 黄 滢, 何智军, 庄礼兴. 不同针灸方法对膝骨关节炎大鼠骨桥蛋白、基质金属蛋白酶-3 和转化生长因子-β1 表达的影响 [J]. 世界中西医结合杂志, 2021, 16 (10): 1820-1825.

[9] 梁树勇, 吕计宝, 王凤德. 少数民族医药外治法治疗膝骨关节炎的研究概述[J]. 中国民族医药杂志, 2021, 27(6): 56-58; 78.

[10] 居来提·托合提, 吐尔洪·艾买尔, 斯拉甫·艾白, 等. 维吾尔医诊断膝关节骨性关节炎回顾性研究分析[J]. 中国民族医药杂志, 2014, 20(2): 26-30.

[11] 中国民族医药学会. 维吾尔医常见病疗效评价标准（T/ZGMZYXH008-014-2015）[S]. 北京：中国中医药出版社, 2015.

[12] Takeuchi K, Ogawa H, Kuramitsu N, *et al.* Colchicine protects against cartilage degeneration by inhibiting MMP13 expression via PLC-γ1 phosphorylation[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2021, 29(11): 1564-1574.

[13] 舒克钢, 劳芳毅, 黄祖权, 等. 芦荟苷体内外对大鼠骨关节炎模型的炎症抑制效应[J]. 免疫学杂志, 2021, 37(5): 425-432.

[14] Zhang C, Shao Z, Hu X, *et al.* Inhibition of PI3K/Akt/NF-κB signaling by aloin for ameliorating the progression of osteoarthritis: *in vitro* and *in vivo* studies [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 89(Pt B): 107079.

[15] 曾 荣, 徐家科, 赵劲民, 等. 芦荟大黄素对小鼠破骨细胞增殖的抑制作用研究[J]. 广西医科大学学报, 2016, 33(2): 240-242.

[16] 李 辉, 李 宁, 谢兴文, 等. 中医药干预基质金属蛋白酶表达治疗膝骨性关节炎研究进展 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2022, 28(1): 120-123; 138.

[17] Li W, Xiong Y, Chen W, *et al.* Wnt/β-catenin signaling may induce senescence of chondrocytes in osteoarthritis[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(3): 2631-2638.

[18] Bassiouni W, Ali M A M, Schulz R. Multifunctional intracellular matrix metalloproteinases: implications in disease[J]. *FEBS J*, 2021, 288(24): 7162-7182.

[19] 张虎林, 喻 琳, 王 亮, 等. 膝骨性关节炎关键信号通

路的研究进展[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2021, 29(10): 84-88.

[20] Huang J, Chen C, Liang C, et al. Dysregulation of the Wnt signaling pathway and synovial stem cell dysfunction in osteoarthritis development [J]. *Stem Cells*, 2020, 29(7): 401-413.

[21] 汪国翔, 章晓云. 骨关节炎病变过程中炎症细胞因子及相关信号通路的作用机制[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(14): 2266-2273.

[22] Xia H, Cao D, Yang F, et al. Jiawei Yanghe decoction ameliorates cartilage degradation *in vitro* and *vivo* via Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 122: 109708.

[23] Yao N, Chen G C, Lu Y Y, et al. Bushen Qiangjin capsule inhibits the Wnt/ β -catenin pathway to ameliorate papain-induced knee osteoarthritis in rats [J]. *J Tradit Chin Med*, 2021, 41(6): 935-942.

[24] 黄璐, 谭谭仪, 邱高艳, 等. 加味独活寄生合剂对兔膝关节关节炎软骨 Wnt3a 及 β -catenin 蛋白表达的影响[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(9): 2053-2055.

芪黄健脾滋肾颗粒调控 JAK1/STAT1 信号通路对 MRL/lpr 狼疮小鼠足细胞凋亡的影响

陈君洁¹, 黄传兵^{2*}, 程丽丽¹, 汤忠富¹, 尚双双², 李明², 刘思娣²
(1. 安徽中医药大学第一附属医院, 安徽 合肥 230031; 2. 安徽中医药大学第一附属医院, 新安医学与中医药现代化研究所, 安徽 合肥 230031)

摘要: **目的** 研究芪黄健脾滋肾颗粒(即健脾滋肾方)对 MRL/lpr 狼疮小鼠 Janus 激酶 1 (JAK1)/信号转导和转录激活因子 1 (STAT1) 通路及对足细胞凋亡的影响。**方法** 将 24 只 MRL/lpr 小鼠随机分为模型组、醋酸泼尼松组(4.55 mg/kg)、芪黄健脾滋肾颗粒(3.9 g/kg)和吗替麦考酚酯组(0.26 g/kg), 每组 6 只, 另以 C57BL/6 小鼠作为对照组。给药 8 周后, 检测小鼠 24 h 尿蛋白、尿总蛋白/尿肌酐、尿白蛋白/尿肌酐水平; 采用 HE 和 PAS 染色观察小鼠肾组织病理变化; 透射电镜观察足细胞超微结构; 免疫荧光 (IF) 法检测小鼠肾组织 p-JAK1、p-STAT1 蛋白表达量; RT-qPCR 法检测肾组织 *JAK1*、*STAT1* mRNA 表达; Western blot 法检测肾组织 Nephlin、Podocin、p-JAK1、p-STAT1、Bcl-2、Bax、Caspase-3 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 芪黄健脾滋肾颗粒组肾组织病理损伤改善, 足细胞足突清晰, 偶有少量融合; 24 h 尿蛋白、尿总蛋白/尿肌酐、尿白蛋白/尿肌酐水平均降低 ($P<0.01$); Nephlin、Podocin、Bcl-2 蛋白表达升高 ($P<0.01$), p-JAK1、p-STAT1、Bax、Caspase-3 蛋白表达降低 ($P<0.01$)。**结论** 芪黄健脾滋肾颗粒可能通过抑制 JAK1/STAT1 信号通路的激活, 减轻足细胞凋亡, 从而减缓 MRL/lpr 狼疮小鼠疾病进展。**关键词:** 芪黄健脾滋肾颗粒; 健脾滋肾方; 系统性红斑狼疮; MRL/lpr 狼疮小鼠; 足细胞损伤; 凋亡; JAK/STAT 信号通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: B 文章编号: 1001-1528(2024)12-4145-06
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2024.12.040

系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 是一种自身免疫性疾病, 其主要特征为免疫复合物沉积并累及多系统损伤。据报道约 50%~70% 的 SLE 患者出现不同程度的肾脏损害, 最终导致死亡^[1-2]。肾小球疾病早期病理改变特征为足细胞损伤和脱落^[3]。足细胞不仅受到肾小球毛细血管病变的附带损害, 也是狼疮性肾炎的潜在靶点^[4]。细胞凋亡与足细胞损伤密切相关, 并在 SLE 的发展中起重要作用^[5-6]。探讨足细胞病理损伤和功能改变并抑制这种进展越来越成为 SLE 治疗关注的热点。Janus 激酶 (JAK)/信号转导和转录激活因子 (STAT) 通路是重要的

收稿日期: 2024-03-12
基金项目: 国家自然科学基金项目 (81473672); 安徽省临床医学研究转化专项项目 (202304295107020114); 安徽省卫生健康科研项目重点项目 (AHWJ2022a005); 安徽省教育厅研究生创新创业实践项目 (ahzydx-tb83); 安徽省高校协同创新项目 (GXXT-2021-085); 大健康研究院新安医学与中医药现代化研究所专项资金资助 (2023CXMMTCM015)
作者简介: 陈君洁 (1997—), 女, 博士生, 研究方向为中医药防治风湿免疫疾病。Tel: 15256544970, E-mail: junjiechen132@163.com
***通信作者:** 黄传兵 (1971—), 男, 博士, 主任医师, 博士生导师, 研究方向为中医药防治风湿病。Tel: 13865922531, E-mail: chuanbinh@163.com