

大豆异黄酮对膝骨关节炎大鼠关节软骨组织的保护作用

桑 平， 李雪鹏， 王子予， 王 斌
(吉林省人民医院脊柱外科, 吉林 长春 130021)

摘要：目的 研究大豆异黄酮对膝骨关节炎大鼠关节软骨组织的保护作用及机制。方法 大鼠关节腔内注射木瓜蛋白酶建立膝骨关节炎模型，并随机分为模型组及大豆异黄酮低、中、高剂量（100、200、400 mg/kg）组，另设空白组，每组 15 只。各组灌胃给予相应剂量药物，每天 1 次，28 d 后检测足肿胀度、痛阈值、关节活动度、滑膜厚度，HE 及番红固绿染色观察软骨组织病理变化并进行 Mankin 评分，ELISA 法检测血清基质金属蛋白酶（MMPs）及炎症因子水平，RT-qPCR、Western blot 法检测软骨组织 NF-κB p65、IκB-α mRNA 及蛋白表达。**结果** 与模型组比较，大豆异黄酮组大鼠足肿胀度，滑膜厚度，Mankin 评分，血清 MMP-1、MMP-3、IL-1β、IL-6、TNF-α 水平，软骨组织 NF-κB p65 mRNA 及 p-NF-κB p65/NF-κB p65 蛋白表达均降低（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），压痛阈值、关节活动度、软骨组织 IκB-α mRNA 及蛋白表达均升高（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ）。**结论** 大豆异黄酮对膝骨关节炎大鼠关节软骨组织具有保护作用，该作用与下调 MMPs 水平及抑制 NF-κB 信号通路导的炎症反应有关。

关键词：大豆异黄酮；膝骨关节炎；MMPs；炎症因子；NF-κB 信号通路

中图分类号：R285.5 文献标志码：B 文章编号：1001-1528(2023)05-1662-05
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.05.048

膝骨关节炎多发生于老年人群，为骨科常见疾病^[1]。目前，膝骨关节炎的治疗手段主要包括运动康复、针灸、药物干预及物理疗法等，然而上述干预效果并不能令人满意^[2]。近年来，多种生物活性成分如苹果多酚、丹参酮、姜黄素等在干预膝骨关节炎方面均呈现出了不错的效果，引起了广泛关注^[3-6]。大豆异黄酮是大豆生长过程中形成的次级代谢产物，具有预防心脑血管疾病及骨质疏松症、抗氧化、抗癌及抗炎等多种活性^[7]。研究发现，大豆异黄酮能通过促进成纤维样滑膜细胞凋亡影响滑膜增殖和关节炎症，进而改善类风湿性关节炎模型大鼠症状^[8]，但大豆异黄酮对膝骨关节炎大鼠关节软骨的保护作用目前未见报道。细胞外基质的降解与合成在膝骨关节炎病变中具有重要意义^[9]。同时，核因子-κB（NF-κB）诱导的炎症反应参与了膝骨关节炎的发生与进展^[10]。因此，本研究拟建立膝骨关节炎大鼠模型，探讨大豆异黄酮对该模型大鼠关节软骨的保护作用，并分析该作用与基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinases, MMPs）、炎症因子及 NF-κB 信号通路的关系，期为膝骨关节炎的防治提供新的解决方案。

1 材料

1.1 实验动物 85 只 SD 雄性大鼠，SPF 级，体质量 200~240 g，由长春市亿斯实验动物技术有限责任公司提供，实验动物生产许可证号 SCXK（吉）2020-0002。大鼠饲养于吉林大学实验动物中心，自由饮水及觅食，实验动物使用许可证号 SYXK（吉）2018-0001。实验过程遵循 3R 原则，

实验方案经吉林省人民医院伦理委员会审批通过（2021017）。

1.2 药物与试剂 大豆异黄酮（纯度 85%）、木瓜蛋白酶、苏木素-伊红（HE）染色液、番红固绿染色液（货号 B25058、S10011、R20570、R20367），购于上海源叶生物科技有限公司；MMP-1、MMP-3 检测试剂盒（货号 H146-5、H146-2），购于南京建成生物工程研究所；白细胞介素-1β（IL-1β）、IL-6 及肿瘤坏死因子-α（TNF-α）检测试剂盒（货号 ml037361、ml064292、ml002859），购于上海酶联生物科技有限公司；TRIzol 试剂、逆转录试剂盒、qPCR SYBR Green Master Mix 试剂盒（货号 15596026、4389986、A25742），购于美国 Thermo Fisher 公司；磷酸化 NF-κB p65（p-NF-κB p65）、NF-κB p65、NF-κB 抑制蛋白-α（IκB-α）多克隆抗体（货号 ab86299、ab16502、ab32518），购于英国 Abcam 公司；磷酸甘油醛脱氢酶（GAPDH）多克隆抗体（货号 10094-R004），购于北京义翘神州科技股份有限公司。

1.3 仪器 37215 型足底压痛检测仪（上海玉研科学仪器有限公司）；RM2206 型石蜡切片机、EG1150 型包埋机（德国徕卡公司）；800TS 型酶标仪（美国 BioTek 公司）；Step One Plus 型 qPCR 仪（美国 Thermo Fisher 公司）；DYY-6C 型蛋白电泳仪、DYCP-34A 型转膜仪、ZF-620 型凝胶成像仪（北京六一生物科技有限公司）。

2 方法

2.1 模型建立、分组及给药 85 只大鼠随机分为空白组

收稿日期：2022-09-01
基金项目：吉林省发展与改革委员会创新能力建设项目（2021C041-7）
作者简介：桑 平（1977—），男，硕士，副主任医师，从事脊柱及骨关节疾病的诊断、治疗与中医药防治研究。Tel：（0431）85595242，E-mail：dxyzuozhe@126.com

(15 只) 及造模组 (70 只), 采用关节腔内注射木瓜蛋白酶建立膝关节关节炎模型^[11]。两组大鼠均进行备皮及消毒操作, 右后肢膝关节及以下部位毛发剔除干净, 并用酒精对皮肤进行消毒。造模组大鼠右后肢膝关节腔内注射 0.2 mL 0.4% 木瓜蛋白酶溶液, 空白组大鼠仅注射等体积生理盐水, 隔天注射 1 次, 共 14 d。注射 14 d 后, 当大鼠右后侧膝关节以及周围出现活动受限、僵硬、红肿热痛, 或出现积液, 或伴有软组织肿胀等症状, 表明造模成功。从造模成功的大鼠中随机选取 60 只, 分为模型组及大豆异黄酮低、中、高剂量组, 每只 15 只。大豆异黄酮低、中、高剂量组分别灌胃 100、200、400 mg/kg 大豆异黄酮溶液 (溶剂为羧甲基纤维素钠溶液), 空白组和模型组灌胃等体积羧甲基纤维素钠溶液, 每天 1 次, 共 28 d。

2.2 标本采集 末次给药后, 各组大鼠禁食不禁水 12 h, 腹腔注射 10% 水合氯醛 (0.4 mL/100 g) 进行麻醉, 腹主动脉采血, 离心分离血清, 分装后保存于-80 ℃冰箱。大鼠右后肢膝关节处剃毛消毒, 将关节周围软组织剥离, 每组随机选取 5 只大鼠, 完整剖取膝关节; 剩余大鼠, 于右后肢膝关节处分离滑膜及关节软骨组织, 并于-80 ℃冰箱中保存。

2.3 足肿胀度及痛阈值检测 末次给药后 2 h 进行足肿胀度及痛阈值检测。用马克笔在大鼠右后侧的膝关节缝处作标记, 将足爪浸入至注满蒸馏水的 50 mL 量筒中, 记录刚好达到标记处时溢出的水体积 (足容积), 通过给药前后的足容积差值表示足肿胀度。痛阈值检测采用足底压痛检测仪进行, 达到痛阈值的信号以大鼠发生疼痛后的嘶鸣声为准。

2.4 关节活动度及滑膜厚度检测 大鼠麻醉后, 在外力作用下通过刻度量角器测量右后膝关节伸展至回缩的角度, 即为关节活动度。关节滑膜厚度通过快进千分尺测量。

2.5 HE 及番红固绿染色观察软骨组织病理变化 固定膝关节后, 经脱钙、二甲苯透明及石蜡包埋后, 制备 5 μm 石蜡切片, 常规法进行 HE 染色及番红固绿染色, 观察膝关节软骨组织病理变化^[12]。大鼠软骨组织退变程度通过 Mankin 评分法进行评价^[13], 分数越高表明损伤越重, 潮线完整性 0~1 分、基质染色 0~4 分、细胞 0~3 分、结构 0~6 分, 各评分之和计为总分 (0~14 分)。

2.6 血清 MMPs 及炎症因子水平检测 取冻存于-80 ℃冰箱中的血清, 按照试剂盒说明书采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 分别测定血清 MMPs (MMP-1、MMP-3) 及炎症因子 (IL-1β、IL-6、TNF-α) 水平。

2.7 软骨组织 *NF-κB* p65、*IκB-α* mRNA 表达检测 取冻存于-80 ℃冰箱中的膝关节软骨组织, 使用 TRIzol 试剂提取总 RNA, 当其纯度在 1.8~2.0 之间时可用于合成 cDNA。按照 qPCR SYBR Green Master Mix 试剂盒说明书配制反应体系, 置于 qPCR 仪中进行扩增。以 *GAPDH* 为内参, 通过 2^{-ΔΔCT} 法计算 *NF-κB* p65、*IκB-α* mRNA 相对表达。引物序列见表 1。

表 1 引物序列		
基因	引物序列	扩增产物长度/bp
<i>NF-κB</i> p65	正向 5'-ATTAGCCAGCGCATCCAGAC-3'	201
	反向 5'-ATCTTCAGCTCGGCAGTGTT-3'	
<i>IκB-α</i>	正向 5'-CCCAGCATCTCCACTCCGTC-3'	158
	反向 5'-ACATCAGCACCCAAAGTCACC-3'	
<i>GAPDH</i>	正向 5'-TGTCACCAACTGGGACGATA-3'	165
	反向 5'-GGGTTGTTGAAGGTCTCAAA-3'	

2.8 软骨组织 p-NF-κB p65、IκB-α 蛋白表达检测 取冻存于-80 ℃冰箱中的膝关节软骨组织, 加入苯甲基磺酰氟和 RIPA 裂解液于 4 ℃下匀浆, 离心取上清液, 即得总蛋白, 经蛋白定量后加热变性。样本通过 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离目的蛋白, 转膜后封闭, 加入一抗 p-NF-κB p65 (1 : 1 000)、NF-κB p65 (1 : 1 000)、IκB-α (1 : 1 000)、GAPDH (1 : 2 500), 4 ℃孵育过夜, 次日 TBST 洗膜, 再加入二抗 (1 : 5 000), 37 ℃孵育 2 h, TBST 洗膜后 ECL 法显影, 于凝胶成像仪中曝光后拍照, Image J 软件分析灰度值并计算各目的蛋白相对表达量。

2.9 统计学分析 通过 SPSS 22.0 软件进行处理, 数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 两两比较采用 LSD-*t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大豆异黄酮对膝关节关节炎大鼠足肿胀度及压痛阈值的影响 空白组大鼠无足肿胀现象; 与空白组比较, 模型组大鼠出现明显的足肿胀, 且足肿胀度增加 (*P*<0.01), 压痛阈值降低 (*P*<0.01), 提示造模成功; 与模型组比较, 大豆异黄酮各剂量组大鼠足肿胀度均降低 (*P*<0.05, *P*<0.01), 压痛阈值均升高 (*P*<0.01), 并呈剂量依赖性, 见表 2。

表 2 各组大鼠足肿胀度及压痛阈值比较 ($\bar{x}\pm s$, *n* = 15)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	足肿胀度/mL	压痛阈值/kPa
空白组	—	0.23±0.03	421.33±36.60
模型组	—	0.45±0.05**	198.04±25.37**
大豆异黄酮低剂量组	100	0.41±0.05#	254.92±30.52##
大豆异黄酮中剂量组	200	0.34±0.04##	336.48±41.83##
大豆异黄酮高剂量组	400	0.32±0.03##	409.14±38.55##

注: 与空白组比较, ** *P*<0.01; 与模型组比较, # *P*<0.05, ##*P*<0.01。

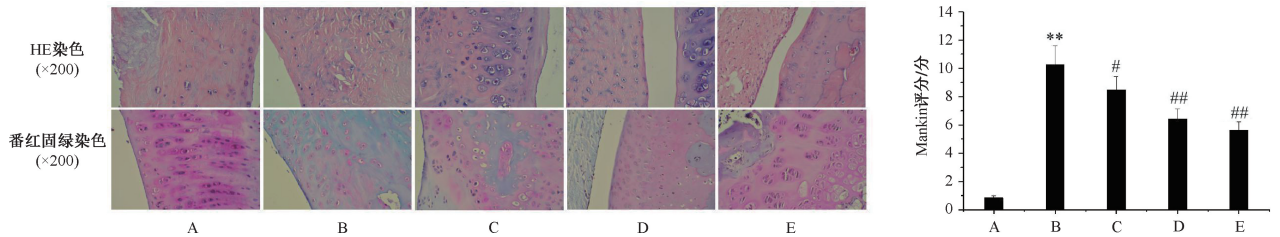
3.2 大豆异黄酮对膝关节关节炎大鼠关节活动度和滑膜厚度的影响 与空白组比较, 模型组大鼠关节活动度降低 (*P*<0.01), 滑膜厚度增加 (*P*<0.01); 与模型组比较, 大豆异黄酮各剂量组大鼠关节活动度增加 (*P*<0.05, *P*<0.01), 滑膜厚度降低 (*P*<0.01), 且呈剂量依赖性, 见表 3。

3.3 大豆异黄酮对膝关节关节炎大鼠膝关节软骨组织病理变化的影响 如图 1 所示, 空白组大鼠软骨无缺损及凹陷, 潮线完整, 软骨基质染色均匀, 软骨细胞数目正常, 排列有序, 形态呈椭圆形; 模型组大鼠关节软骨组织全层或局部丢失, 潮线基本消失, 软骨基质染色消失或明显减少,

表 3 各组大鼠关节活动度和滑膜厚度比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	剂量/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	关节活动度/($^{\circ}$)	滑膜厚度/mm
空白组	—	162.19 $\pm$ 12.41	0.20 $\pm$ 0.03
模型组	—	110.67 $\pm$ 9.86**	0.39 $\pm$ 0.04**
大豆异黄酮低剂量组	100	127.21 $\pm$ 14.18 [#]	0.31 $\pm$ 0.03 ^{##}
大豆异黄酮中剂量组	200	134.72 $\pm$ 11.32 ^{##}	0.29 $\pm$ 0.04 ^{##}
大豆异黄酮高剂量组	400	156.53 $\pm$ 16.45 ^{##}	0.26 $\pm$ 0.02 ^{##}

注：与空白组比较,** $P<0.01$ ；与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$ 。



注：A~E 分别为空白组、模型组及大豆异黄酮低、中、高剂量组。与空白组比较,** $P<0.01$ ；与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$ 。

图 1 各组大鼠膝关节软骨组织病理变化 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

表 4 各组大鼠血清 MMP-1、MMP-3 水平比较 (ng/L , $\bar{x}\pm s$, $n=15$)

组别	剂量/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	MMP-1	MMP-3
空白组	—	52.68 $\pm$ 6.76	3.62 $\pm$ 0.57
模型组	—	101.09 $\pm$ 12.85**	6.74 $\pm$ 0.86**
大豆异黄酮低剂量组	100	85.43 $\pm$ 8.19 ^{##}	5.27 $\pm$ 0.58 ^{##}
大豆异黄酮中剂量组	200	73.12 $\pm$ 8.70 ^{##}	5.18 $\pm$ 0.61 ^{##}
大豆异黄酮高剂量组	400	68.03 $\pm$ 7.24 ^{##}	4.59 $\pm$ 0.43 ^{##}

注：与空白组比较,** $P<0.01$ ；与模型组比较,^{##} $P<0.01$ 。

表 5 各组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平比较 (ng/L , $\bar{x}\pm s$, $n=15$)

组别	剂量/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	IL-1 β	IL-6	TNF- α
空白组	—	6.52 $\pm$ 0.54	19.88 $\pm$ 2.23	22.90 $\pm$ 2.52
模型组	—	13.18 $\pm$ 1.42**	38.72 $\pm$ 4.65**	51.34 $\pm$ 6.28**
大豆异黄酮低剂量组	100	10.23 $\pm$ 1.29 ^{##}	32.13 $\pm$ 3.71 ^{##}	40.23 $\pm$ 4.11 ^{##}
大豆异黄酮中剂量组	200	9.15 $\pm$ 0.84 ^{##}	28.57 $\pm$ 2.32 ^{##}	33.19 $\pm$ 3.85 ^{##}
大豆异黄酮高剂量组	400	7.47 $\pm$ 0.96 ^{##}	25.41 $\pm$ 2.86 ^{##}	29.26 $\pm$ 3.34 ^{##}

注：与空白组比较,** $P<0.01$ ；与模型组比较,^{##} $P<0.01$ 。

表 6 各组大鼠软骨组织 NF- κ B p65、I κ B- α mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	剂量/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	NF- κ B p65 mRNA	I κ B- α mRNA
空白组	—	0.67 $\pm$ 0.05	1.16 $\pm$ 0.10
模型组	—	1.75 $\pm$ 0.21**	0.44 $\pm$ 0.05**
大豆异黄酮低剂量组	100	1.34 $\pm$ 0.13 [#]	0.70 $\pm$ 0.06 ^{##}
大豆异黄酮中剂量组	200	1.08 $\pm$ 0.09 ^{##}	0.81 $\pm$ 0.09 ^{##}
大豆异黄酮高剂量组	400	0.82 $\pm$ 0.11 ^{##}	0.88 $\pm$ 0.07 ^{##}

注：与空白组比较,** $P<0.01$ ；与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$ 。

3.7 大豆异黄酮对膝关节炎大鼠软骨组织 NF- κ B p65、

Mankin 评分高于空白组 ($P<0.01$)；大豆异黄酮各剂量组大鼠关节软骨组织全层或局部丢失现象减少，潮线隐约可见或后移，软骨基质染色深于模型组，Mankin 评分低于模型组 ($P<0.05$, $P<0.01$)，且呈剂量依赖性。

3.4 大豆异黄酮对膝关节炎大鼠血清 MMP-1、MMP-3 水平的影响 与空白组比较，模型组大鼠血清 MMP-1、MMP-3 水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，大豆异黄酮各剂量组大鼠血清 MMP-1、MMP-3 水平降低 ($P<0.01$)，且呈剂量依赖性，见表 4。

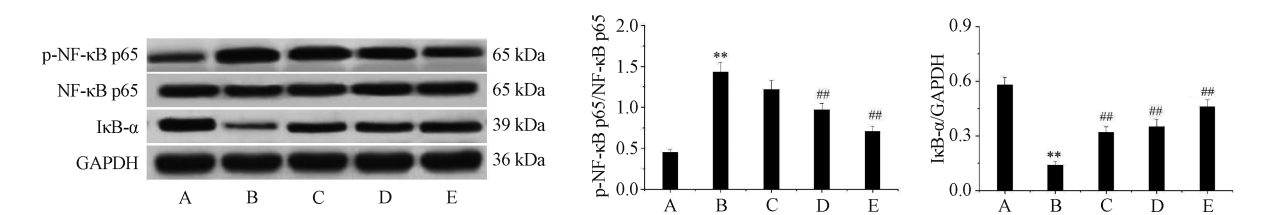
3.5 大豆异黄酮对膝关节炎大鼠血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平的影响 与空白组比较，模型组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平均升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，大豆异黄酮各剂量组大鼠血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平均降低 ($P<0.01$)，且呈剂量依赖性，见表 5。

3.6 大豆异黄酮对膝关节炎大鼠软骨组织 NF- κ B p65、I κ B- α mRNA 表达的影响 与空白组比较，模型组大鼠软骨组织 NF- κ B p65 mRNA 表达升高 ($P<0.01$)，I κ B- α mRNA 表达降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，大豆异黄酮各剂量组 NF- κ B p65 mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，而 I κ B- α mRNA 表达升高 ($P<0.01$)，且呈剂量依赖性，见表 6。

I κ B- α 蛋白表达的影响 如图 2 所示，与空白组比较，模型组大鼠软骨组织 p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 蛋白表达升高 ($P<0.01$)，I κ B- α 蛋白表达降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，大豆异黄酮中、高剂量组大鼠软骨组织 p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 蛋白表达降低 ($P<0.01$)，各剂量组 I κ B- α 蛋白表达均升高 ($P<0.01$)，且呈剂量依赖性。

4 讨论

肿胀及疼痛是膝关节炎患者最主要的临床症状，而肿胀及疼痛会进一步造成膝关节功能的下降及滑膜厚度的改变^[14]。本研究采用关节腔内注射木瓜蛋白酶法建立膝骨关节炎模型，灌胃给予大豆异黄酮 28 d 后发现，其可以降



注：A~E 分别为空白组、模型组及大豆异黄酮低、中、高剂量组。与空白组比较，***P*<0.01；与模型组比较，##*P*<0.01。

图 2 各组大鼠软骨组织 NF-κB p65、IκB-α 蛋白表达 ($\bar{x}\pm s$, *n*=3)

低模型大鼠足肿胀度、滑膜厚度及 Mankin 评分，增加压痛阈值及关节活动度，具有保护膝骨关节炎大鼠关节软骨组织的作用。

MMPs 是一类结构相似的蛋白酶，具有降解关节软骨的生物学功能，可以使胶原纤维变薄，分解胶原成分并造成胶原的松散排列，促进软骨基质肿胀的发生，最终引起膝骨关节炎^[15]。MMP-1 为胶原酶，可以同时降解 I、II 及 III 型胶原；MMP-3 又名间质溶解素，除可以降解 IV 型胶原外，还可以降解蛋白聚糖、糖蛋白及明胶等^[16]。抑制 MMPs 水平是减轻膝骨关节炎临床症状，缓解膝关节病理进程，促进肢体功能恢复的重要手段。本研究发现，大豆异黄酮可以有效降低膝骨关节炎大鼠血清 MMP-1 及 MMP-3 水平，提示保护膝骨关节炎大鼠关节软骨组织作用与抑制 MMPs 水平有关。

IL-1β、IL-6 及 TNF-α 为机体调节骨代谢的主要炎症因子，是炎症反应的始动因素，参与了膝骨关节炎的发病进程^[17]。IL-1β、TNF-α 可以刺激滑膜细胞分泌前列腺素 E₂，引起基质降解酶尤其是 MMPs 家族的产生，造成软骨细胞功能退变。IL-1β 可以和 TNF-α 发挥协同作用，介导骨关节组织的破坏，其水平与膝骨关节炎软骨破坏严重程度呈正相关^[18]。IL-6 可以通过分泌形式作用于软骨细胞，使软骨细胞的正常增殖受到影响，也可以使局部组织炎性水肿程度加重，加快破骨样细胞的形成速度，进而使软骨的降解破坏加剧^[19]。NF-κB 信号通路是主要的炎症调控通路，在膝骨关节炎的炎症反应中具有重要意义，在膝骨关节炎的不同阶段，NF-κB 信号通路均呈异常激活状态^[20]。NF-κB 信号通路主要由 NF-κB 家族及其抑制物 IκB 家族构成，NF-κB 能上调 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 等炎症因子水平，从而促进炎症反应；IκB 为 NF-κB 的抑制蛋白，其中 IκB-α 是最重要也是最早被克隆的分子，具有下调炎症因子水平及抑制炎症反应作用^[21]。本研究发现，大豆异黄酮可以有效降低膝骨关节炎大鼠血清 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平及关节软骨组织 NF-κB p65 mRNA、p-NF-κB p65 蛋白表达，升高关节软骨组织 IκB-α mRNA 及蛋白表达，表明大豆异黄酮可以通过抑制 NF-κB 信号通路的活化，下调炎症因子水平及抑制炎症反应，进而发挥保护膝骨关节炎大鼠关节软骨组织作用。

综上所述，大豆异黄酮对膝骨关节炎大鼠关节软骨组织具有保护作用，该作用与下调 MMPs 水平及抑制 NF-κB 信号通路介导的炎症反应有关。大豆异黄酮保护膝骨关节

炎大鼠关节软骨组织的其他机制，有待深入研究。

参考文献：

[1] Shavazipour B, Afsar B, Multanen J, *et al.* Interactive multiobjective optimization for finding the most preferred exercise therapy modality in knee osteoarthritis[J]. *Ann Med*, 2022, 54 (1): 181-194.

[2] Lakshmanan D K, Ravichandran G, Elangovan A, *et al.* *Cissus quadrangularis* (veldt grape) attenuates disease progression and anatomical changes in mono sodium iodoacetate (MIA) - induced knee osteoarthritis in the rat model[J]. *Food Funct*, 2020, 11(9): 7842-7855.

[3] Kobayashi M, Harada S, Fujimoto N, *et al.* Apple polyphenols exhibits chondroprotective changes of synovium and prevents knee osteoarthritis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 614: 120-124.

[4] Basu A, Kurien B T, Tran H, *et al.* Strawberries decrease circulating levels of tumor necrosis factor and lipid peroxides in obese adults with knee osteoarthritis[J]. *Food Funct*, 2018, 9 (12): 6218-6226.

[5] 孙晓娟, 侯 娜. 丹参酮对膝骨关节炎大鼠的抗炎作用[J]. 现代食品科技, 2019, 35(12): 14-19; 86.

[6] Guan T, Ding L G, Lu B Y, *et al.* Combined administration of curcumin and chondroitin sulfate alleviates cartilage injury and inflammation *via* NF-κB pathway in knee osteoarthritis rats[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 882304.

[7] 陈嘉序, 陈如扬, 连 媛, 等. 大豆异黄酮的生物转化及功能活性研究进展[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(9): 176-182.

[8] 缪成贵, 秦梅颂, 陈建中, 等. 大豆异黄酮影响类风湿性关节炎模型大鼠 FLS 凋亡[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(2): 1-4.

[9] 李 蓉, 朱含月. 酮咯酸氨丁三醇抑制膝骨关节炎模型大鼠炎症反应[J]. 基础医学与临床, 2022, 42(3): 417-422.

[10] 李惠娟, 张 栋, 张晓哲, 等. 不同针刺干预膝骨关节炎模型大鼠对 NF-κB 信号通路的调控影响[J]. 针灸临床杂志, 2020, 36(5): 62-67.

[11] 马 超, 唐华羽. 补肾活血壮骨汤对膝骨性关节炎模型大鼠的影响[J]. 中医学报, 2021, 36(6): 1267-1271.

[12] 张 续, 郑 洁, 赵莉平, 等. 独活寄生汤对膝骨关节炎大鼠 IL-17/NF-κB 通路的影响[J]. 陕西中医, 2022, 43(6): 691-695.

[13] Cheng J H, Chou W Y, Wang C J, *et al.* Pathological, morphometric and correlation analysis of the modified Mankin

score, tidemark roughness and calcified cartilage thickness in rat knee osteoarthritis after extracorporeal shockwave therapy[J]. *Int J Med Sci*, 2022, 19(2): 242-256.

[14] Guo X, Yang Y H, Liao D M, *et al.* Effect of manipulation on cartilage in rats with knee osteoarthritis based on the Rho-associated protein kinase/LIM kinase 1/Cofilin signaling pathways[J]. *J Tradit Chin Med*, 2022, 42(2): 194-199.

[15] Ko J H, Kang Y M, Yang J H, *et al.* Regulation of MMP and TIMP expression in synovial fibroblasts from knee osteoarthritis with flexion contracture using adenovirus-mediated relaxin gene therapy[J]. *Knee*, 2019, 26(2): 317-329.

[16] Shi L, Wang K X, Yu J H, *et al.* Relationship between magnetic resonance T2-mapping and matrix metalloproteinase 1, 3 in knee osteoarthritis[J]. *Indian J Orthop*, 2020, 55(4): 974-982.

[17] Amirkhizi F, Asoudeh F, Hamed-Shahraki S, *et al.* Vitamin D status is associated with inflammatory biomarkers and clinical symptoms in patients with knee osteoarthritis[J]. *Knee*, 2022, 36: 44-52.

[18] Chen R F, Zhang Y Q, Xu H G, *et al.* Val109Asp polymorphism of the omentin-1 gene and incidence of knee osteoarthritis in a Chinese Han population: A correlation analysis[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 15: 5075-5086.

[19] Li J R, Shao Q, Zhu X B, *et al.* Efficacy of autologous bone marrow mesenchymal stem cells in the treatment of knee osteoarthritis and their effects on the expression of serum TNF- α and IL-6[J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2020, 20(1): 128-135.

[20] Chen L, Lou Y T, Pan Z Q, *et al.* Treadmill and wheel exercise protect against JNK/NF- κ B induced inflammation in experimental models of knee osteoarthritis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 523(1): 117-122.

[21] Udomsinprasert W, Jinawath A, Teerawattanapong N, *et al.* Interleukin-34 overexpression mediated through tumor necrosis factor- α reflects severity of synovitis in knee osteoarthritis[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 7987.

白芍总苷对自身免疫性甲状腺炎大鼠的免疫调节作用

余欣然¹, 陈云志^{1*}, 牧亚峰²
(1. 贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550000; 2. 湖北中医药大学, 湖北 武汉 430000)

摘要: **目的** 探讨白芍总苷对自身免疫性甲状腺炎大鼠 SOCS1 及 JAK/STAT 信号通路的影响。**方法** 将 60 只大鼠随机分为对照组、模型组、西药组和白芍总苷低、中、高剂量组, 建立自身免疫性甲状腺炎模型, 药物治疗 8 周, 取大鼠血清及甲状腺组织, 镜下观察各组大鼠甲状腺病理改变, ELISA 法检测大鼠血清 TGAb、TPOAb 水平, Western blot 及 RT-qPCR 法检测大鼠甲状腺组织 SOCS1 及 JAK1、JAK2、STAT3、STAT5 蛋白和 mRNA 表达。**结果** 与对照组比较, 模型组大鼠血清 TGAb、TPOAb 水平升高 ($P<0.05$), 甲状腺组织 SOCS1 蛋白和 mRNA 表达降低 ($P<0.05$), JAK1、JAK2、STAT3、STAT5 蛋白和 mRNA 表达升高 ($P<0.05$); 与模型组比较, 西药组和白芍总苷各剂量组大鼠血清 TGAb、TPOAb 水平降低 ($P<0.05$), 甲状腺组织 SOCS1 蛋白和 mRNA 表达升高 ($P<0.05$), JAK1、JAK2、STAT3、STAT5 蛋白和 mRNA 表达降低 ($P<0.05$)。**结论** 白芍总苷可调节自身免疫性甲状腺炎大鼠 SOCS1 表达, 调控 JAK/STAT 信号通路, 减轻大鼠炎症反应, 降低大鼠血清 TGAb、TPOAb 水平, 发挥免疫调节作用。

关键词: 白芍总苷; 自身免疫性甲状腺炎; SOCS1; 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(2023)05-1666-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.05.049

自身免疫性甲状腺炎 (autoimmune thyroiditis, AIT) 是一种常见的自身免疫性疾病, 发病率为 5% 左右^[1], 多发于女性, 属中医“癭病”范畴, 病位多在肝。本病可表现为一过性甲减、甲功正常, 最终常发展为终身性甲减, 与甲状腺癌的发生也有一定的关联^[2], 因此早期发现干预具有重要的临床意义。目前 AIT 发病机制尚不明确, 认为

收稿日期: 2021-10-22

基金项目: 贵州省一流学科建设项目 (QYNYL [2017] 005); 教育厅滚动支持省属高校科研平台团队项目 [黔教技 (2022) 023]; 贵州省普通高校青年科技人才成长项目 (黔教合 KY 字 [2022] 271 号)

作者简介: 余欣然 (1989—), 女, 博士, 讲师, 研究方向为中医药防治内分泌及代谢性疾病。Tel: 15727227658, E-mail: 835189601@qq.com

* 通信作者: 陈云志 (1968—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中医证候物质基础研究。Tel: 18798602065, E-mail: 1239638026@qq.com