

# 芹菜素通过调节 ERK/Nrf2/HO-1 信号通路对多囊卵巢综合征大鼠卵巢功能的影响

夏婷婷<sup>1</sup>，彭清妹<sup>1\*</sup>，曾克非<sup>2</sup>，吴小兰<sup>2</sup>，雷祥华<sup>2</sup>

(1. 井冈山大学附属医院生殖医学科，江西 吉安 343000；2. 井冈山大学附属医院妇产科，江西 吉安 343000)

**摘要：**目的 探究芹菜素对多囊卵巢综合征 (PCOS) 大鼠卵巢功能的影响。方法 60 只大鼠随机分为对照组，模型组，芹菜素低、中、高剂量组 (15、30、60 mg/kg)，阳性对照组 (戊酸雌二醇 0.1 mg/kg)，每组 10 只。计算各组大鼠卵巢指数，观察卵巢组织病理学变化，ELISA 法检测血清 AMH、FSH、LH、DHEA、E<sub>2</sub>、T 水平，试剂盒法检测血清 MDA、SOD、GPx 水平，Western blot 法检测卵巢组织 p-ERK、ERK、HO-1、Nrf2 蛋白表达。结果 与对照组比较，模型组大鼠体质量和卵巢指数，AMH、E<sub>2</sub>、SOD、GPx 水平，p-ERK/ERK、Nrf2、HO-1 蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ )，FSH、LH、T、DHEA、MDA 水平升高 ( $P < 0.05$ )，卵巢组织存在病理学损伤；与模型组比较，芹菜素各剂量组和阳性对照组大鼠体质量和卵巢指数，AMH、E<sub>2</sub>、SOD、GPx 水平，p-ERK/ERK、Nrf2、HO-1 蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ )，FSH、LH、T、DHEA、MDA 水平降低 ( $P < 0.05$ )，卵巢组织病理学损伤均有不同程度减轻。结论 芹菜素可能通过激活 ERK/Nrf2/HO-1 信号通路来对 PCOS 大鼠卵巢功能发挥保护作用。

**关键词：**芹菜素；多囊卵巢综合征 (PCOS)；细胞外调节蛋白激酶 (ERK)；核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2)；血红素加氧酶 1 (HO-1)；卵巢功能

中图分类号：R285.5

文献标志码：B

文章编号：1001-1528(2024)04-1352-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2024.04.047

多囊卵巢综合征 (PCOS) 是一种女性常见的内分泌代谢疾病，其主要特征为卵巢多囊样改变或卵巢体积增大，患者临床症状包括月经失调、无排卵、肥胖、胰岛素抵抗、多毛等<sup>[1]</sup>。PCOS 多发于 20~40 岁，会对卵巢正常功能产生影响，可引起卵巢内卵泡数量减少、卵子质量下降，还会促进卵巢早衰，容易导致患者不孕，对患者本身及家庭造成严重影响。目前，对于 PCOS 发病机制尚不完全明确，但通过调节机体抗氧化系统能够较好缓解或减轻 PCOS 症状<sup>[2-3]</sup>。

芹菜素属于黄酮类化合物，广泛分布于多种蔬菜和水果中，尤以芹菜中含量最高，亦是黄芩、半枝莲、紫苏子等中药的重要活性成分<sup>[4-6]</sup>。研究表明，芹菜素具有抗炎、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤、安神镇静等作用<sup>[7]</sup>，此外对 PCOS 有一定的保护作用<sup>[8]</sup>。核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) / 血红素加氧酶 1 (HO-1) 信号通路是机体调控抗氧化系统的一条重要途径，参与 PCOS 或卵巢功能减退的发生发展<sup>[9-10]</sup>，而细胞外调节蛋白激酶 (ERK) 位于 Nrf2 上游，能够调节 Nrf2/HO-1 信号通路介导的抗氧化反应<sup>[11]</sup>。因此，本研究通过建立 PCOS 大鼠模型，探讨芹菜素是否能够通过调节 ERK/Nrf2/HO-1 信号通路对 PCOS 大

鼠卵巢功能的影响。

## 1 材料

1.1 动物 60 只 SPF 级雌性 SD 大鼠，8 周龄，体质量 210~230 g，由江西中医药大学提供，实验动物生产许可证号 SCXK (赣) 2017-0003，饲养条件为相对湿度 45%~55%，温度 22~26 °C，12 h/12 h 明暗交替，适应性喂养使其稳定 3 d 后进行实验。本研究经井冈山大学附属医院动物伦理委员会审批 (伦理号 P2021-0115-2)。

1.2 试剂 芹菜素对照品 (纯度 99.8%，上海韵泰信息科技有限公司，批号 YG11029)。来曲唑片 (深圳市沃德医药科技有限公司，批号 WD22-353)；戊酸雌二醇片 (国药准字 J20171038，德国拜耳公司)。苏木素-伊红 (HE) 染色液 (北京雷根生物技术有限公司，批号 DH0006)；大鼠抗缪勒管激素 (AMH)、大鼠促卵泡素 (FSH)、大鼠促黄体激素 (LH)、大鼠脱氢表雄酮 (DHEA) ELISA 试剂盒 (美国 EK-Bioscience 公司，批号 EK-R37672、EK-M28716、EK-R37064、EK-R38235)；大鼠雌二醇 (E<sub>2</sub>) ELISA 试剂盒、大鼠睾酮 (T) ELISA 试剂盒 (上海延慕实业有限公司，批号 FK-S2111、FK-S2113)；丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx) 检测试剂

收稿日期：2023-02-24

基金项目：江西省卫生计生委 2020 年度科技计划项目 (2020Z3022)

作者简介：夏婷婷 (1986—)，女，硕士，主治医师，从事生殖医学研究。Tel: 18333591382，E-mail: Xiatingting2022@163.com

\* 通信作者：彭清妹 (1978—)，女，硕士，副主任医师，从事生殖医学研究。Tel: 13879667811，E-mail: 21067418@qq.com

盒(上海碧云天生物技术股份有限公司,批号S0131S、S0088、S0058);免抗大鼠一抗磷酸化细胞外调节蛋白激酶(p-ERK)(美国Affinity公司,批号AF1015);免抗大鼠一抗ERK(美国CST公司,批号137F5);免抗大鼠一抗Nrf2、HO-1、GAPDH、山羊抗兔二抗(英国Abcam公司,批号ab89443、ab13243、ab181602、ab207995)。

1.3 仪器 4XC光学显微镜[邦亿精密量仪(上海)有限公司];TG-16W高速低温离心机(山东博科科学仪器有限公司);iBright<sup>TM</sup> FL1500凝胶成像仪(美国赛默飞世尔公司)。

## 2 方法

2.1 分组、造模及给药 60只大鼠随机分为对照组,模型组,芹菜素低、中、高剂量组,阳性对照组,每组10只,除对照组外,其余各组大鼠灌胃给予来曲唑1 mg/kg,对照组大鼠灌胃给予等体积生理盐水,连续21 d<sup>[12]</sup>,第16~21天进行阴道涂片,阴道上皮细胞持续角化表明模型构建成功。造模成功后,芹菜素低、中、高剂量组大鼠分别灌胃给予15、30、60 mg/kg芹菜素<sup>[13]</sup>,阳性对照组大鼠灌胃给予戊酸雌二醇0.1 mg/kg<sup>[14]</sup>,模型组和对照组大鼠灌胃给予等体积DMSO,连续30 d。

2.2 卵巢指数检测 于末次给药2 h后,2%戊巴比妥钠麻醉大鼠并称定体质量,腹主动脉取血,离心后收集血清,于-20℃冷冻保存。处死大鼠,摘取双侧卵巢,称定质量,计算卵巢指数,一侧放入多聚甲醛中固定,用于病理学观察,而另一侧于-80℃冷冻保存。

2.3 HE染色观察大鼠卵巢组织病理变化 取各组大鼠卵巢组织,于4%多聚甲醛中固定24 h,乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,切成薄片,HE染色,在光学显微镜下观察其形态学变化。

2.4 ELISA法检测血清AMH、FSH、LH、E<sub>2</sub>、T、DHEA水平 取各组大鼠血清,严格按照相关试剂盒说明书操作,检测AMH、FSH、LH、E<sub>2</sub>、T、DHEA水平。

2.5 大鼠血清SOD、GPx活性及MDA水平检测 取各组大鼠血清,严格按照相关试剂盒说明书操作,检测SOD、GPx活性及MDA水平。

2.6 Western blot法检测卵巢组织p-ERK、ERK、HO-1、Nrf2蛋白表达 取大鼠卵巢组织,加入RIPA裂解液匀浆,提取蛋白,BCA法检测浓度,调整至统一上样浓度,SDS-PAGE凝胶电泳分离,半干转印至PVDF膜,5%脱脂奶粉溶液室温封闭1 h,加入p-ERK、ERK、HO-1、Nrf2、

GAPDH一抗(1:500)一抗4℃孵育过夜,洗膜后加入二抗(1:5000)孵育1 h,再次洗膜后ECL显色,凝胶成像仪拍摄图像。通过Tanon软件分析条带灰度值,以GAPDH为内参,计算各蛋白相对表达。

2.7 统计学分析 通过SPSS 22.0软件进行处理,符合正态分布的数据以( $\bar{x}\pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用SNK-q检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 3 结果

3.1 芹菜素对大鼠体质量、卵巢指数的影响 与对照组比较,模型组大鼠体质量、卵巢指数降低( $P<0.05$ );与模型组比较,芹菜素各剂量组和阳性对照组大鼠体质量、卵巢指数升高( $P<0.05$ ),并呈剂量依赖性;与芹菜素高剂量组比较,阳性对照组大鼠体质量、卵巢指数无明显变化( $P>0.05$ ),见表1。

表1 芹菜素对大鼠体质量、卵巢指数的影响( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	体质量/mg	卵巢指数/(mg·g <sup>-1</sup> )
对照组	325.78±11.24	0.83±0.06
模型组	273.54±10.15 <sup>*</sup>	0.51±0.04 <sup>*</sup>
芹菜素低剂量组	300.82±11.28 <sup>#</sup>	0.62±0.04 <sup>#</sup>
芹菜素中剂量组	306.57±10.16 <sup>#</sup>	0.67±0.05 <sup>#</sup>
芹菜素高剂量组	319.29±11.77 <sup>#△</sup>	0.76±0.06 <sup>#△</sup>
阳性对照组	317.41±12.15 <sup>#△</sup>	0.73±0.05 <sup>#△</sup>

注:与对照组比较,<sup>\*</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与芹菜素低剂量组比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ ;与芹菜素中剂量组比较,<sup>▲</sup> $P<0.05$ 。

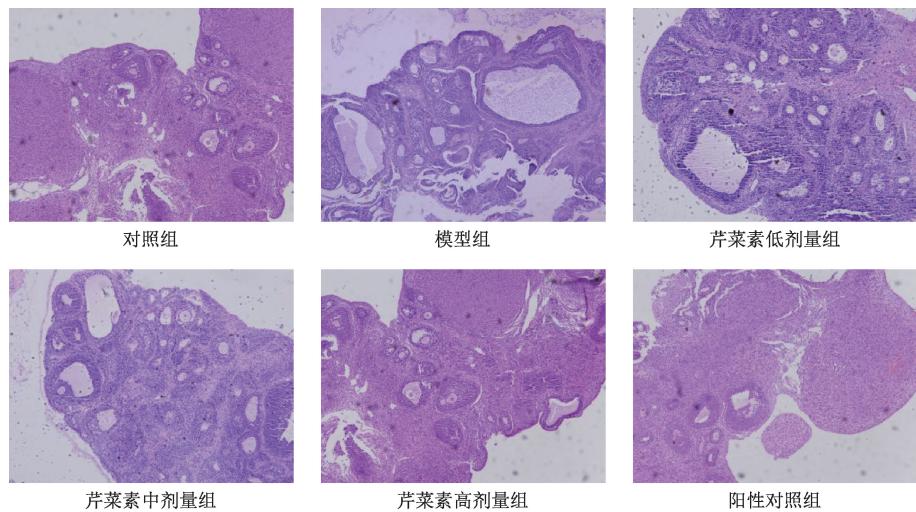
3.2 芹菜素对卵巢组织病理学变化的影响 对照组大鼠卵巢组织可见不同发育阶段的卵泡,生长活跃,黄体丰富,发育良好;模型组大鼠卵巢组织闭锁卵泡增加,可见多个囊状卵泡,另外黄体数量也减少,并伴有间质纤维组织增生情况;与模型组比较,芹菜素各剂量组和阳性对照组大鼠卵巢组织黄体数量增多,闭锁卵泡、囊状卵泡减少,间质纤维组织增生基本未见,见图1。

3.3 芹菜素对大鼠血清AMH、FSH、LH、E<sub>2</sub>、T、DHEA水平的影响 与对照组比较,模型组大鼠血清FSH、LH、T、DHEA水平升高( $P<0.05$ ),AMH、E<sub>2</sub>水平降低( $P<0.05$ );与模型组比较,芹菜素各剂量组和阳性对照组大鼠血清FSH、LH、T、DHEA水平降低( $P<0.05$ ),AMH、E<sub>2</sub>水平升高( $P<0.05$ ),并呈剂量依赖性;与芹菜素高剂量组比较,阳性对照组大鼠血清AMH、FSH、LH、E<sub>2</sub>、T、DHEA水平无明显变化( $P>0.05$ ),见表2。

表2 芹菜素对大鼠血清AMH、FSH、LH、E<sub>2</sub>、T、DHEA水平的影响( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	AMH/(pmol·L <sup>-1</sup> )	FSH/(pmol·L <sup>-1</sup> )	LH/(mU·mL <sup>-1</sup> )	E <sub>2</sub> /(ng·mL <sup>-1</sup> )	T/(pmol·L <sup>-1</sup> )	DHEA/(pmol·L <sup>-1</sup> )
对照组	3.16±0.08	1 824.41±102.14	1.30±0.03	285.46±19.08	101.48±8.75	20.13±1.14
模型组	1.79±0.04 <sup>*</sup>	3 792.35±196.53 <sup>*</sup>	1.47±0.06 <sup>*</sup>	127.86±10.42 <sup>*</sup>	256.82±18.33 <sup>*</sup>	34.52±1.31 <sup>*</sup>
芹菜素低剂量组	1.91±0.05 <sup>#</sup>	3 126.16±162.54 <sup>#</sup>	1.40±0.04 <sup>#</sup>	161.45±12.37 <sup>#</sup>	203.39±15.21 <sup>#</sup>	29.15±1.18 <sup>#</sup>
芹菜素中剂量组	1.93±0.06 <sup>#</sup>	2 538.94±120.77 <sup>#△</sup>	1.37±0.03 <sup>#</sup>	195.73±13.06 <sup>#△</sup>	168.57±12.16 <sup>#△</sup>	27.37±1.05 <sup>#△</sup>
芹菜素高剂量组	3.07±0.07 <sup>#△▲</sup>	1 683.62±143.29 <sup>#△▲</sup>	1.29±0.02 <sup>#△▲</sup>	234.17±13.21 <sup>#△▲</sup>	109.30±9.42 <sup>#△▲</sup>	22.49±1.06 <sup>#△▲</sup>
阳性对照组	3.03±0.06 <sup>#△▲</sup>	1 725.31±110.28 <sup>#△▲</sup>	1.32±0.03 <sup>#△▲</sup>	229.33±15.28 <sup>#△▲</sup>	115.24±7.17 <sup>#△▲</sup>	22.96±0.97 <sup>#△▲</sup>

注:与对照组比较,<sup>\*</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与芹菜素低剂量组比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ ;与芹菜素中剂量组比较,<sup>▲</sup> $P<0.05$ 。

图1 芹菜素对大鼠卵巢组织病理学变化的影响 (HE,  $\times 40$ )

3.4 芹菜素对大鼠血清 SOD、GPx 活力及 MDA 水平的影响 与对照组比较, 模型组大鼠血清 MDA 水平升高 ( $P<0.05$ ), SOD、GPx 活力降低 ( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 芹菜素各剂量组和阳性对照组大鼠血清 MDA 水平降低

( $P<0.05$ ), SOD、GPx 活力升高 ( $P<0.05$ ), 并呈剂量依赖性; 与芹菜素高剂量组比较, 阳性对照组大鼠血清 SOD、GPx 活力及 MDA 水平无明显变化 ( $P>0.05$ ), 见表 3。

表3 芹菜素对大鼠血清 SOD、GPx 活力及 MDA 水平的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	SOD/(U·mL <sup>-1</sup> )	GPx/(nmol·mL <sup>-1</sup> )	MDA/(nmol·mL <sup>-1</sup> )
对照组	26.25±2.11	3364.45±278.02	7.69±0.65
模型组	9.33±1.03*	1953.76±136.08*	18.85±1.28*
芹菜素低剂量组	13.62±1.25 <sup>#</sup>	2374.53±155.04 <sup>#</sup>	15.51±1.09 <sup>#</sup>
芹菜素中剂量组	16.88±1.36 <sup>#△</sup>	2623.27±163.03 <sup>#</sup>	13.24±1.07 <sup>#△</sup>
芹菜素高剂量组	21.17±1.92 <sup>#△▲</sup>	3122.38±247.02 <sup>#△▲</sup>	9.78±0.86 <sup>#△▲</sup>
阳性对照组	20.14±2.10 <sup>#△▲</sup>	3004.23±211.58 <sup>#△▲</sup>	9.84±0.93 <sup>#△▲</sup>

注: 与对照组比较, \*  $P<0.05$ ; 与模型组比较, #  $P<0.05$ ; 与芹菜素低剂量组比较, △  $P<0.05$ ; 与芹菜素中剂量组比较, ▲  $P<0.05$ 。

3.5 芹菜素对大鼠卵巢组织 p-ERK、ERK、HO-1、Nrf2 蛋白表达的影响 与对照组比较, 模型组大鼠卵巢组织 p-ERK、Nrf2、HO-1 蛋白表达降低 ( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 芹菜素各剂量组和阳性对照组大鼠卵巢组织 p-ERK、Nrf2、HO-1 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ ), 并呈剂量依赖性; 与芹菜素高剂量组比较, 阳性对照组大鼠卵巢组织 p-ERK、Nrf2、HO-1 蛋白表达无明显变化 ( $P>0.05$ ), 见图 2、表 4。

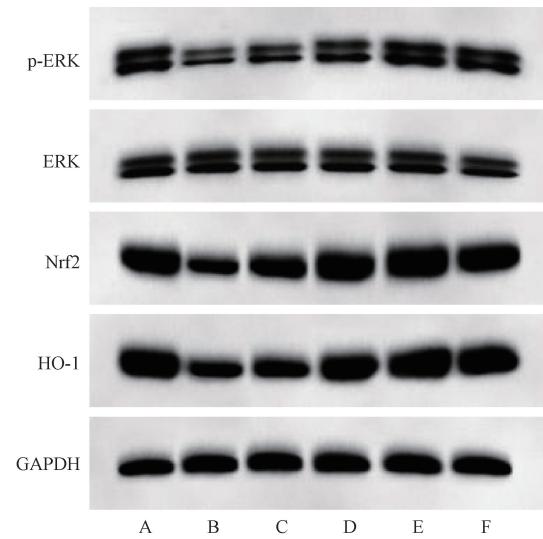
表4 芹菜素对大鼠卵巢组织 p-ERK、ERK、HO-1、Nrf2 蛋白表达的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

组别	p-ERK/ERK	Nrf2/GAPDH	HO-1/GAPDH
对照组	1.51±0.12	1.62±0.02	1.88±0.13
模型组	0.62±0.06*	0.74±0.08*	0.90±0.07*
芹菜素低剂量组	0.92±0.07 <sup>#</sup>	1.02±0.04 <sup>#</sup>	1.18±0.08 <sup>#</sup>
芹菜素中剂量组	1.19±0.09 <sup>#△</sup>	1.23±0.03 <sup>#△</sup>	1.43±0.11 <sup>#△</sup>
芹菜素高剂量组	1.53±0.11 <sup>#△▲</sup>	1.57±0.02 <sup>#△▲</sup>	1.85±0.11 <sup>#△▲</sup>
阳性对照组	1.50±0.07 <sup>#△▲</sup>	1.54±0.03 <sup>#△▲</sup>	1.76±0.13 <sup>#△▲</sup>

注: 与对照组比较, \*  $P<0.05$ ; 与模型组比较, #  $P<0.05$ ; 与芹菜素低剂量组比较, △  $P<0.05$ ; 与芹菜素中剂量组比较, ▲  $P<0.05$ 。

#### 4 讨论

芹菜素, 化学名称 4', 5, 7-三羟基黄酮, 在葡萄柚、橙子等水果和欧芹、洋葱等蔬菜中, 以及茶叶、洋甘菊中大量存



注: A 为对照组, B 为模型组, C~E 分别为芹菜素低、中、高剂量组, F 为阳性对照组。

图2 各组大鼠卵巢组织 p-ERK、ERK、HO-1、Nrf2 蛋白条带

在, 其抗炎、抗氧化、抗癌的作用已在研究中得到证实<sup>[8]</sup>。

PCOS 是导致女性卵巢功能衰退, 继而不孕的常见疾

病, 临床特点包括血清激素紊乱、月经不调、脱发、痤疮等<sup>[1]</sup>。FSH、LH、AMH、E<sub>2</sub>、T、DHEA 及卵巢指数被作为卵巢功能常用的评价指标, 通常情况下会采用多项指标联合评估的方式进行卵巢功能评价<sup>[15]</sup>。FSH 水平与卵巢储备功能呈反比, LH 与 FSH 具有协同促进作用, LH 水平提高也预示着卵巢功能的下降。E<sub>2</sub> 主要由卵巢成熟滤泡分泌, 其水平高低也可作为判断卵巢功能好坏的一个重要指标。AMH 是较 FSH 和 E<sub>2</sub> 更具代表性的卵巢功能指标。T 和 DHEA 水平异常可表明机体性激素严重失调<sup>[16-17]</sup>。本研究结果提示 PCOS 模型大鼠卵巢功能下降, 而与模型组比较, 芹菜素各剂量组和阳性对照组 FSH、LH、T、DHEA 水平降低, AMH、E<sub>2</sub> 水平及卵巢指数升高, 表明芹菜素能够通过调节机体性激素水平, 维持卵巢正常状态, 帮助恢复卵巢正常功能。此外, 卵巢组织病理学观察也可以从侧面验证这一情况, 芹菜素各剂量组大鼠卵巢组织卵泡和黄体等情况相对于模型组都有良好改善。

研究表明, 氧化应激是 PCOS 疾病的一个重要促成因素<sup>[8-10]</sup>。MDA 是自由基与细胞脂质反应的一种有毒代谢产物, 可作为氧化应激反应标志物<sup>[18]</sup>。SOD 和 GPx 是 2 种具有代表性的抗氧化酶, 在维持氧化还原平衡中有重要作用<sup>[19-20]</sup>。本研究结果提示, PCOS 模型大鼠体内存在氧化应激反应, 抗氧化能力减弱, 而与模型组比较, 芹菜素各剂量组和阳性对照组 MDA 水平降低, SOD、GPx 活性升高, 说明芹菜素能够提高机体抗氧化系统能力, 减轻氧化应激反应, 调节氧化还原平衡。

Nrf2/HO-1 通路是机体自身一条非常重要的抗氧化通路<sup>[21]</sup>。Nrf2 参与多种细胞功能的调节和机体自身抗氧化基因表达的调控, 活化后会向细胞核内转移, 与调控抗氧化酶基因表达的抗氧化反应原件 (ARE) 结合, 促进抗氧化酶等基因表达<sup>[22]</sup>。HO-1 是受 ARE 调控的一种重要细胞保护酶, 它及其代谢物在氧化应激、炎症反应、细胞凋亡、细胞增殖等多种生理病理反应调节中均具有一定作用<sup>[23]</sup>。研究表明, p-ERK 能够调控 Nrf2 介导的抗氧化反应<sup>[24]</sup>; 本研究显示, 芹菜素能够提高 p-ERK、Nrf2、HO-1 蛋白表达, 即激活 ERK/Nrf2/HO-1 信号通路, 从而提高 SOD、GPx 等抗氧化酶活性, 增强细胞和组织的抗氧化能力。

综上所述, 芹菜素能够对 PCOS 大鼠卵巢功能发挥保护作用, 其作用机制可能是通过激活 ERK/Nrf2/HO-1 信号通路, 提高 SOD、GPx 活性, 维持机体氧化还原平衡, 进而促进卵泡发育, 改善 FSH、AMH 等性激素水平, 最终调节卵巢功能。

## 参考文献:

- [ 1 ] 袁莹莹, 赵君利. 多囊卵巢综合征流行病学特点 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2019, 35(3): 261-264.
- [ 2 ] 刘莹, 高雪林, 丁媛, 等. 多囊卵巢综合征与氧化应激相关性研究进展 [J]. 中华生殖与避孕杂志, 2019, 39(1): 79-82.
- [ 3 ] 曹梦娣, 盛楠, 赵薇. 多囊卵巢综合征的中西医病机及抗氧化治疗研究进展 [J]. 湖南中医杂志, 2021, 37(6): 189-192.
- [ 4 ] 刘婷, 孔铭, 刘丽芳, 等. 黄芩药材商品规格与内在质量相关性研究 [J]. 中医药学报, 2018, 46(4): 41-47.
- [ 5 ] 朱晓芹, 郑雅, 刘志强, 等. 半枝莲主要黄酮类成分抗癌协同机制的网络药理学分析 [J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(9): 1037-1044.
- [ 6 ] 杨文惠, 罗宇琴, 孙冬梅, 等. 一测多评法测定不同产地紫苏子中 4 种活性成分的含量 [J]. 中国现代中药, 2020, 22(6): 884-889.
- [ 7 ] 邢志华. 芹菜素及其衍生物药理作用研究新进展 [J]. 中国药学杂志, 2018, 53(15): 1241-1247.
- [ 8 ] Darabi P, Khazali H, Mehrabani Natanzi M. Therapeutic potentials of the natural plant flavonoid apigenin in polycystic ovary syndrome in rat model: via modulation of pro-inflammatory cytokines and antioxidant activity [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2020, 36(7): 582-587.
- [ 9 ] Ding C Y, Zou Q Y, Wu Y F, et al. EGF released from human placental mesenchymal stem cells improves premature ovarian insufficiency via Nrf2/HO-1 activation [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(3): 2992-3009.
- [ 10 ] 汪倩, 卢鸽, 李红晓, 等. 基于 Nrf2/HO-1 信号通路探讨艾灸对卵巢储备功能减退大鼠的炎性调控机制 [J]. 北京中医药大学学报, 2021, 44(3): 280-288.
- [ 11 ] Zhang S, Xu S K, Duan H F, et al. A novel, highly-water-soluble apigenin derivative provides neuroprotection following ischemia in male rats by regulating the ERK/Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 815(1): 208-215.
- [ 12 ] 苗明三, 彭孟凡, 闫晓丽, 等. 莴丝子总黄酮对来曲唑致多囊卵巢综合征大鼠模型的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(16): 17-23.
- [ 13 ] 李泽奎, 李智奇, 喻涛. 基于 Notch1/ROR- $\gamma$  信号通路研究芹菜素对自身免疫性甲状腺炎小鼠的保护作用 [J]. 广东药科大学学报, 2021, 37(6): 89-94.
- [ 14 ] 黄长盛, 贺守第, 管雁丞, 等. 莴丝子黄酮和槲皮素对雷公藤多苷致卵巢早衰大鼠卵巢功能的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(6): 667-670.
- [ 15 ] Cheng J J, Ruan X Y, Zhou Q, et al. How much total ovarian tissue can be removed without compromising ovarian function? An animal study [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2021, 37(3): 240-245.
- [ 16 ] Liu W P, Chen Q, Liu Z D, et al. Zihuai recipe alleviates cyclophosphamide-induced diminished ovarian reserve via suppressing PI3K/AKT-mediated apoptosis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 277: 113789.
- [ 17 ] Robertson D M, Lee C H, Baerwald A. Interactions between serum FSH, inhibin B and antral follicle count in the decline of serum AMH during the menstrual cycle in late reproductive age [J]. *Endocrinol Diabetes Metab*, 2020, 4(2): e00172.
- [ 18 ] Goyal T, Mitra P, Singh P, et al. Evaluation of oxidative stress and pro-inflammatory cytokines in occupationally cadmium exposed workers [J]. *Work*, 2021, 69(1): 67-73.

- [19] Wang L F, Shi Z X, Wang X Y, et al. Protective effects of bovine milk exosomes against oxidative stress in IEC-6 cells [J]. *Eur J Nutr*, 2021, 60(1): 317-327.
- [20] Afshari-Kaveh M, Abbasalipourkabir R, Nourian A, et al. The protective effects of vitamins A and E on titanium dioxide nanoparticles (nTiO<sub>2</sub>) -induced oxidative stress in the spleen tissues of male wistar rats [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2021, 199(10): 3367-3687.
- [21] 田婵婵, 王宏志, 马欣悦. 人参皂苷 Rg1 对大鼠阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征引起的肺损伤及 Nrf2/HO-1 信号通路的影响 [J]. 实用药物与临床, 2021, 24(4): 294-299.
- [22] Ulasov A V, Rosenkranz A A, Georgiev G P, et al. Nrf2/Keap1/ARE signaling: Towards specific regulation [J]. *Life Sci*, 2022, 291: 120111.
- [23] Uddin M J, Kim E H, Hannan M A, et al. Pharmacotherapy against oxidative stress in chronic kidney disease: promising small molecule natural products targeting Nrf2-HO-1 signaling [J]. *Antioxidants*, 2021, 10(2): 258-270.
- [24] Deng S X, Liu S P, Jin P, et al. Albumin reduces oxidative stress and neuronal apoptosis via the ERK/Nrf2/HO-1 pathway after intracerebral hemorrhage in rats [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 8891373.

## 姜黄素对 LPS 诱导小鼠滑膜成纤维细胞炎症和纤维化的影响

宋亚丽, 秦凯丽\*, 公慧萍, 来晓炜, 原子琦, 田吉梅, 宋秀珍  
(长治医学院附属和平医院, 山西 长治 046000)

**摘要:** 目的 探讨姜黄素对脂多糖 (LPS) 诱导小鼠滑膜成纤维细胞炎症和纤维化的影响。方法 0、5、10、20、40、80、160  $\mu\text{mol/L}$  姜黄素作用小鼠滑膜成纤维细胞 24 h, MTT 法检测细胞增殖情况, 筛选最佳作用浓度。将细胞分为对照组、模型组 (10  $\mu\text{g/mL}$  LPS)、姜黄素组 (20  $\mu\text{mol/L}$ )、SB-431542 组 (100  $\mu\text{mol/L}$ ) 和姜黄素+SB-431542 组 (20  $\mu\text{mol/L}$ +100  $\mu\text{mol/L}$ )。ELISA 法检测 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平, Western blot 法检测 COL1A1、TIMP1、TGF- $\beta$ 1、Smad2、p-Smad2、Smad3、p-Smad3 蛋白表达。结果 与对照组比较, 模型组滑膜成纤维细胞 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平, 以及 COL1A1、TIMP1、TGF- $\beta$ 1、p-Smad2/Smad2、p-Smad3/Smad3 蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ )；与模型组比较, 姜黄素组和 SB-431542 组滑膜成纤维细胞 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平, 以及 COL1A1、TIMP1、TGF- $\beta$ 1、p-Smad2/Smad2、p-Smad3/Smad3 蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ )；与 SB-431542 组比较, 姜黄素+SB-431542 组滑膜成纤维细胞 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平, 以及 COL1A1、TIMP1、TGF- $\beta$ 1、p-Smad2/Smad2、p-Smad3/Smad3 蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ )。结论 姜黄素通过抑制 TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路, 从而抑制 LPS 诱导小鼠滑膜成纤维细胞炎症和纤维化。

**关键词:** 姜黄素; 滑膜成纤维细胞; 炎症; 纤维化; TGF- $\beta$ 1/Smad 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)04-1356-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2024.04.048

骨关节炎是最常见的关节疾病, 主要表现为关节软骨退化及滑膜炎, 导致疼痛和残疾<sup>[1]</sup>。滑膜成纤维细胞在骨关节炎的炎症和关节破坏中发挥重要作用, 主要通过分泌多种促炎介质及金属蛋白酶等, 促进细胞外基质降解, 进一步加剧骨关节炎进展<sup>[2]</sup>。研究表明, 在骨关节炎的发展过程中滑膜会发生纤维化, 并在软骨破坏中起关键作用, 这也是导致关节僵硬及滑膜增生等常见症状的重要原因之一<sup>[3-4]</sup>, 因此, 减轻滑膜炎症及纤维化是治疗骨关节炎的有效途径。临幊上治疗骨关节炎的常用药物是非甾体抗炎药, 然而长期使用可能会引起胃肠道和心血管不良反应, 因此寻找安全有效的药物尤为重要<sup>[5]</sup>。姜黄素是姜黄的主要活性成分, 具有抗癌、抗炎、抗氧化等作用<sup>[6]</sup>, 可减轻骨关

节炎症状, 延缓其进程, 在治疗骨关节炎方面具有巨大潜力<sup>[7]</sup>。本研究通过体外实验观察姜黄素对 LPS 诱导的滑膜成纤维细胞炎症及纤维化的影响, 并探讨其可能的作用机制, 以期为其深入考察提供参考。

### 1 材料

小鼠滑膜成纤维细胞来源于青旗 (上海) 生物技术发展有限公司。

胎牛血清 (货号 SH30022.01B) 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; DMEM (货号 SH30022.01B) 购自美国 HyClone 公司; IL-1 $\beta$  (货号 MU30369)、TNF- $\alpha$  (货号 MU30030)、IL-6 (货号 MU30044) ELISA 试剂盒, COL1A1 (货号 PAB45893)、TIMP1 (货号 PAB38546)、

收稿日期: 2023-02-09

基金项目: 长治医学院附属和平医院院级科研基金 (HPYJ201941, HPYJ202029)

作者简介: 宋亚丽 (1984—), 女, 硕士, 主治医师, 从事骨关节炎发病机制研究。E-mail: songyali1984@163.com

\* 通信作者: 秦凯丽 (1990—), 女, 硕士, 主治医师, 从事骨关节炎发病机制研究。E-mail: caryqin1990@163.com