

调控肿瘤坏死因子及其信号通路的中药治疗 骨性关节炎的研究进展

贾子跃, 张少卓*

(天津中医药大学 中药学院, 天津 301617)

[摘要] 骨性关节炎(OA),又名退行性骨性关节炎。其主要临床表现为关节疼痛、肿胀及功能障碍。随着现代社会人口老龄化程度的加重,其发病率在全世界范围内呈逐年上升的趋势,已经成为使中老年人生活质量下降、甚至残疾的主要疾病之一。现代医学对OA的研究表明,由激活的巨噬细胞和(或)滑膜细胞产生的肿瘤坏死因子- α (TNF- α),是OA炎症反应的始动因子,能与多个信号传导通路协同作用,被认为是OA病程中促进软骨基质降解及关节软骨破坏的最重要的细胞因子和炎症介质之一,在OA的病程中发挥着关键的核心作用。中医药在中医基础理论指导下,遵循以人为本、辨证论治的原则对OA进行个体化治疗,具有多靶点、高疗效和低不良反应的显著优势。近年来探讨中药及其有效成分抗OA的具体作用机制成为研究热点。该文阐述了TNF- α 及其信号传导通路在OA病程中的作用,并分析总结作用于TNF- α 及其信号传导通路的中药治疗OA的现代医学研究进展,旨在为中医药抗OA的临床治疗、基础研究及靶向药物的研发提供一定的参考依据。

[关键词] 骨性关节炎; 中药; 肿瘤坏死因子; 信号通路

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R284;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)20-0250-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220909

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220304.1456.001.html>

[网络出版日期] 2022-03-08 8:49

Chinese Medicine in Treatment of Osteoarthritis by Regulating Tumor Necrosis Factor and Signaling Pathways: A Review

JIA Ziyue, ZHANG Shaozhuo*

(School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

[Abstract] Osteoarthritis (OA) is also known as degenerative arthritis with prominent clinical manifestations of joint pain, joint swelling, and loss of mobility. With the aggravation of population aging in modern society, its incidence is increasing year by year worldwide, and it has become one of the main diseases that reduce the quality of life of middle-aged and elderly people and even lead to disability. Modern medical research on OA has shown that tumor necrosis factor- α (TNF- α) produced by activated macrophages and/or synoviocytes is the initiator of OA inflammatory response and can interact with multiple signal transduction pathways. It is considered to be one of the most important cytokines and inflammatory mediators that promote the degradation of cartilage matrix and the destruction of articular cartilage in the course of OA, and plays a key role in the course of OA. Under the guidance of the basic theories of traditional Chinese medicine (TCM), Chinese medicine provides individualized treatment of OA following the principle of people-oriented, syndrome differentiation and treatment, and has the significant advantages of multiple targets, high efficacy, and low

[收稿日期] 2022-01-25

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2011zx09201-201-21)

[第一作者] 贾子跃,从事治疗骨性关节炎的中药药理研究,E-mail:ziyuejia@foxmail.com

[通信作者] *张少卓,博士,副教授,从事治疗骨性关节炎的中药药理研究,E-mail:zhangsz800@sina.com

toxicity. In recent years, it has become a research hotspot to explore the specific mechanism of Chinese medicine and its active ingredients in the treatment of OA. This study described the role of TNF- α and its signal transduction pathways in the course of OA and reviewed the modern medical research advances in Chinese medicine acting on TNF- α and its signal transduction pathways in the treatment of OA, providing a certain reference basis for the clinical treatment of OA, basic research, and development of targeted drugs.

[Keywords] osteoarthritis; Chinese medicine; tumor necrosis factor; signaling pathway

骨性关节炎(OA)是以软骨细胞凋亡、关节软骨被破坏、细胞外基质合成和分解代谢失衡、滑膜的炎性改变和软骨下骨的改变等为主要特点的慢性骨科退行性疾病,以关节的疼痛、肿胀及功能障碍等为主要临床表现^[1-2]。中国健康与养老追踪调查数据库的研究结果显示,OA好发于中老年人群,65岁以上的人群50%以上都患有此病。OA引发关节症状的同时,还会增加心血管事件的发生率,症状性膝骨关节炎(KOA)被认为可增加全因死亡率近1倍。当前对于OA的治疗,西药主要采用口服非甾体类抗炎药、糖皮质激素、阿片类镇痛药等维持治疗^[2],长期用药逐渐产生明显的不良反应,有些患者难以耐受;而中医药在中医基础理论指导下,遵循以人为本、辨证论治的原则进行个体化治疗。多年来众多临床试验研究和荟萃分析^[3-10]表明中药治疗具有疗效较好且不良反应较小的优势。但是,中药作为一种天然药物,其成分复杂、靶点广泛,如何从现代医学的角度更好地阐释中药有效成分及作用机制是目前中药发展亟待解决的核心问题之一。

在OA的病程发展过程中,体内广泛的细胞因子之间相互联系、协同作用,形成了复杂的细胞因子网络,肿瘤坏死因子(TNF)则是细胞因子网络中的核心部分,被认为是OA病程中促进软骨基质降解及关节软骨破坏的最重要的细胞因子和炎症介质之一^[11]。因此,中药调控TNF- α 治疗OA的机制研究,对于发挥中药治疗OA的优势具有重要意义。

1 TNF- α 及其信号通路

TNF的研究始于诱导肿瘤细胞坏死或凋亡,1975年CASWELL等^[12]发现注射卡介苗后的小鼠经内毒素或脂多糖处理,其血清中会产生一种对正常细胞无毒性、但能使小鼠肿瘤发生坏死的活性因子,这种细胞因子即称为肿瘤坏死因子。此后,有学者分离并鉴定了TNF- α 与TNF- β ^[13-14],把活化的巨噬细胞、单核细胞和T细胞产生TNF称为TNF- α ,而把活化的T细胞和自然杀伤细胞(NK细胞)产生的淋巴毒素称为TNF- β 。TNF- α 、TNF- β 通过细胞表面相同的受体传递信号,其生物学效应基本相

似。目前对于TNF- α 的研究较为深入,一般文献中的TNF多指TNF- α 。

TNF- α 主要由激活的巨噬细胞产生,其次也可以由淋巴细胞、平滑肌细胞、内皮细胞等多种细胞产生。生理条件下,TNF- α 蛋白结构一般以二聚体、三聚体和五聚体形式存在,同源的三聚体是TNF- α 具有生物活性的天然形式^[15]。

正常情况下,巨噬细胞仅含有少量TNF- α mRNA,脂多糖、免疫复合物和感染等多种因素的刺激,能快速引起TNF- α 的表达和释放。TNF- α 有1型受体(TNFR1)和2型受体(TNFR2)两种,几乎所有细胞都表达TNFR1,而TNFR2主要表达于免疫细胞和血管内皮细胞。TNF- α 通过结合TNFR1和TNFR2,激活几种信号通路,包括c-Jun氨基末端激酶(JNK)、分泌型糖蛋白(Wnt)/ β -连环蛋白(Wnt/ β -catenin)、p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)通路和最重要的核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路,产生广泛的生物学效应^[16]。

在NF- κ B信号通路的激活过程中,有一系列蛋白如TNFR相关因子(TRAF)、NF- κ B抑制蛋白 α (I κ B α)和Fas相关死亡结构域蛋白(FADD)等参与作用,促进一系列生长、分化、抗凋亡相关基因的表达。NF- κ B也可介导几种炎症基因的表达,例如诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、环氧合酶-2(COX-2)和趋化因子的基因,并且还有助于诱导基质金属蛋白酶(MMP)-1、MMP-9、MMP-13等的产生^[17],也能反馈性地调节包括TNF- α 在内的多种炎症介质^[18]。

另外,细胞膜上TNFR1在与活性形式的TNF- α 结合后,还可以招募凋亡相关蛋白FADD和胱天蛋白酶-8/10(Caspases-8/10)前体,进而激活Caspase等凋亡级联反应,引发细胞凋亡^[19]。而TNFR2在心肌梗死后的心肌修复^[20]、保护中枢神经^[21]、维持调节性T细胞功能^[22]中发挥重要作用,在机体天然免疫及组织保护中起重要作用。最新的研究发现,游离型TNF- α (solTNF- α)和膜结合/跨膜型TNF- α (tmTNF- α)介导不同的生理和病理作用,solTNF- α 主要是通过TNFR1在炎症中发挥重要作用,而

tmTNF- α 主要通过TNFR2在维持机体天然免疫中起重要作用^[13]。

过量的TNF- α 除引起其信号通路传导异常外,还能通过结合内皮细胞产生过氧化物阴离子,促进内皮细胞分泌白细胞介素-1(IL-1)、IL-8和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子等炎症因子,并增加中性粒细胞在内皮细胞上黏附,进而刺激机体局部发生炎症反应;同时TNF- α 通过刺激单核细胞和巨噬细胞释放IL-1、IL-8,激发了炎症的连锁反应,使炎症发展扩大^[23-24]。

由此可见,TNF- α 具有多种生物活性,能与其他多种细胞因子共同作用参与炎症反应,他在OA发生、发展过程中的作用,值得进一步的研究和探索。

2 TNF- α 与OA

OA的发病机制目前尚未明确。众多研究已经证实,OA患者血浆及关节液中TNF- α 水平明显高于正常人群,且关节液中TNF- α 水平与OA病变程度呈正相关^[25]。一些易感因素(如年龄、性别、肥胖等)可以通过调控相关炎症因子、激活诱导OA的分子信号机制,广泛参与OA的发生、发展过程。

2.1 TNF- α 对OA炎症反应的作用 在OA病程中,滑膜炎能够加剧软骨破坏,加快OA的发展;而TNF- α 在滑膜炎的发生中具有关键作用^[26]。既往研究表明,胶原诱导性关节炎模型中,阻断TNF- α 的信号传导能使滑膜炎显著降低^[27]。在关节细胞中,TNF通过诱导促炎细胞因子如IL-6^[28],趋化因子如IL-8^[29]和单核细胞趋化蛋白-1^[30],放大和延续OA的炎症反应。TNF也刺激产生许多其他与OA病理有关的炎症细胞因子。例如,用这些细胞因子处理软骨细胞会上调iNOS、可溶性磷脂酶A₂、COX-2和微粒体前列腺素E合酶-1的基因的表达,并且还刺激NO和前列腺素E₂(PGE₂)的释放,加剧炎症反应^[16]。

2.2 TNF- α 对软骨合成代谢和分解代谢的影响

研究表明TNF通过抑制软骨细胞的合成代谢活动减少主要细胞外基质成分的合成^[31]。其能抑制软骨细胞中蛋白多糖、连接蛋白和II型胶原蛋白的合成,从而破坏关节软骨结构^[31-32]。此外,TNF还刺激软骨细胞释放多种蛋白水解酶,包括MMP-1、MMP-3和MMP-13^[33-34]。这3种蛋白酶是软骨破坏的关键酶类。

ZHAO等^[35]的研究显示,OA病程中关节软骨的破坏,是TNF- α 与其介导的 β -catenin信号通路共同作用的结果;GOLDRING等^[36]研究认为,在OA

的病理过程中,NF- κ B可被TNF- α 等激活;NF- κ B的持续激活能导致其他多种调节转录因子的激活,使得MMP-13高表达,从而破坏关节软骨的结构。NF- κ B信号通路在OA发生发展过程中,广泛参与关节软骨、滑膜和软骨下骨的病理改变,尤以关节软骨的破坏为其核心环节^[16]。OA炎症反应过程中产生的NO和PGE₂,通过增强MMPs的产生和激活、抑制合成代谢大分子(如胶原蛋白和蛋白多糖)的合成、抑制白细胞介素-1受体拮抗蛋白(IL-1RA)的产生和促进软骨细胞凋亡来促进关节炎症和破坏^[37]。TNF还诱导产生NO和超氧阴离子等活性氧(ROS),进而产生过氧化氢、过氧亚硝酸盐和羟基自由基,促进软骨降解^[38]。此外,TNF下调清除ROS的抗氧化酶表达,这些酶包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶,从而加速ROS对软骨的破坏作用^[39]。

总之,较多实验证明,TNF能与多条信号传导通路协同作用,导致滑膜炎、促进关节软骨基质的分解和加剧关节软骨的破坏等,在OA病程发展中起到了重要的核心作用。因此,以TNF- α 为治疗靶点成为了目前防治OA的研究热点。

3 针对TNF- α 的OA现代医学治疗

目前针对TNF- α 临床应用较广泛的抑制剂多为抗TNF单克隆抗体,包括依那西普(Enbrel)、英夫利昔单抗(Infliximab)、阿达木单抗(Adalimumab)、赛妥珠单抗(Certolizumab)和戈利木单抗(Golimumab),大多用于类风湿关节炎及银屑病等的治疗;尽管临床前证据确定了OA中TNF- α 的致炎作用和软骨破坏效应,但使用抗TNF单克隆抗体的现代医学治疗方案对OA的效果并不明确,临床研究也十分有限。在一项涉及10名糜烂性手部OA患者的临床试验中,关节内注射英夫利昔单抗的耐受性良好,并在随访1年时减轻了OA症状^[40];但也有评估阿达木单抗治疗难治性手部OA的临床试验表明,两次皮下注射阿达木单抗治疗组疗效与安慰剂组差异无统计学意义,未能证明阿达木单抗对手部OA有任何临床情况的改善^[41]。

4 中药调控TNF- α 治疗OA

4.1 单味中药及其有效提取物 牛膝中的主要活性成分牛膝总皂苷,可作用于T细胞受体、TNF、IL-17等信号通路,减轻或阻止OA病程发展^[42-43]。牛膝中的山柰酚能够抑制I κ B α 的磷酸化、阻止NF- κ B p65进入细胞核内,抑制NF- κ B通路,减少大鼠OA软骨细胞中TNF- α 等炎症因子的产生和释

放^[44-45]。卢伟达等^[46]认为,牛膝中的蜕皮甾酮可能会通过抑制NF- κ B p65的磷酸化发挥抗凋亡和抗炎作用。

淫羊藿苷和淫羊藿总黄酮是淫羊藿的两种主要有效成分。章晓云等^[47]基于网络药理学和蛋白模块分析,指出淫羊藿有效成分能作用于白介素受体信号通路、TNF信号通路、Toll样受体(TLR)信号通路、NF- κ B信号通路等,以多通路、多靶点协同作用干预OA的病理过程。吴迎春等^[48]在OA临床研究发现经淫羊藿苷干预后,与对照组比较,治疗组的血清IL-1 β 和TNF- α 水平明显降低。秦丰伟等^[49]研究也说明了骨髓间充质干细胞经淫羊藿苷干预后,其抑制促炎细胞因子IL-1、TNF- α 和促进抗炎细胞因子IL-10产生的活性有很大程度的提高。余永林等^[50]研究发现,用淫羊藿总黄酮干预脂肪间充质干细胞可降低关节腔内NO、IL-1与TNF- α 等炎症因子水平,作用机制可能与通过降低TLR4、髓样分化因子88(MyD88)、TRAF6和NF- κ B p65蛋白表达,调节TLR4/NF- κ B信号通路有关。MI等^[51]研究发现TNF- α 对软骨细胞的负面影响可以通过淫羊藿苷部分阻断,且淫羊藿苷可以通过抑制TNF- α 刺激的NF- κ B p65核易位和I κ B α 蛋白降解来减少NF- κ B的激活,从而抑制TNF对NF- κ B信号通路的正反馈作用。金剑飞等^[52]发现淫羊藿总黄酮能够下调KOA大鼠血清中和关节滑膜组织中IL-6、IL-1 β 和TNF- α 的表达水平,显著抑制KOA大鼠滑膜组织中p-I κ B- α /I κ B- α 和p-NF- κ B p65/NF- κ B p65的表达,表明其作用机制与抑制NF- κ B信号通路活化有关。

当归的两种成分,即阿魏酸和蒿本内酯在OA的防治过程中起着重要的保护作用。CHEN等^[53]提出阿魏酸可通过降低软骨细胞的IL-1 β 、TNF- α 、MMP-1、MMP-13的表达,起到保护关节软骨的作用。ZHOU等^[54]的实验表明,蒿本内酯可能通过抑制PI3K/Akt通路对NF- κ B的活化,在基因水平上抑制了PGE₂、TNF- α 和IL-6等炎症因子的过度分泌,起到减轻软骨细胞炎症的作用。郭光鑫等^[55]的网络药理学分析指出,谷甾醇和豆甾醇是当归的重要活性成分,能抑制NF- κ B信号通路的活化。YIN等^[56]的研究指出谷甾醇能通过抑制TLR4的表达,同时激活I κ B的表达,协同调控NF- κ B的过度激活,进而降低大鼠TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平,减轻大鼠的炎症反应。GABAY等^[57]研究了豆甾醇对OA的作用,指出豆甾醇能在一定程度上拮抗IL-1 β 对

NF- κ B信号通路的活化。HE等^[58]的研究则表明当归中的前胡素(DE)能抑制OA小鼠PGE₂、IL-6、TNF- α 、COX-2、NO及iNOS表达,且呈剂量依赖性;分子对接结果表明,DE与PI3K的抑制靶点高度亲和,其机制可能与抑制IL-1 β 介导的PI3K/Akt/NF- κ B轴异常兴奋有关。

SHI等^[59]采用网络药理学分析了丹参治疗KOA的分子机制,提出丹参的主要有效成分包括木犀草素、丹参酮类等,能通过调节前列腺素内过氧化物合酶2、MAPK1、表皮生长因子受体、Caspase-3等蛋白的表达,间接调节TNF、IL-17和低氧诱导因子-1等信号通路,起到促进软骨细胞增殖、改善微循环、清除自由基和抑制炎症因子的作用。FEI等^[60]发现木犀草素能够抑制大鼠软骨细胞NF- κ B的磷酸化以及显著降低TNF- α 、NO和PGE₂的产生。TANG等^[61]的研究显示,隐丹参酮能有效抑制巨噬细胞TNF- α 的产生,其机制可能与阻断MAPK信号通路的磷酸化,以及抑制I κ B α 降解和NF- κ B p65易位进入细胞核来阻止NF- κ B的激活有关。洪瑛等^[62]发现丹参酮II_A抑制IL-1 β 对NF- κ B信号通路激活作用,抑制TNF的释放和TRAF6的表达,增强软骨细胞的代偿能力,缓解TNF- α 大量释放引起的软骨细胞损伤,从而保护关节软骨。此外丹参酮还可以通过提高软骨细胞SOD活性,抑制iNOS活性,对抗氧自由基对关节软骨细胞的破坏作用,减轻IL-1 β 和TNF- α 对软骨细胞的破坏^[63]。

陈辉文^[64]研究补骨脂中活性成分新补骨脂异黄酮的抑制破骨细胞分化的作用,研究了新补骨脂异黄酮对RAW264.7细胞中核转录因子- κ B激活因子受体(RANK)与TRAF6之间相互作用的影响。结果说明,新补骨脂异黄酮能有效抑制RANK对TRAF6的募集,抑制NF- κ B、MAPKs、蛋白激酶B(Akt)和钙离子通路的激活,从而抑制破骨细胞分化(表1)。

4.2 复方中药制剂 当前,OA的中药内服治疗方案大多是根据临床分期、辨证分型选用传统经验方及其化裁方和名家验方等,使用复方中草药进行个体化用药^[65]。独活寄生汤是近年来广泛用于治疗肝肾亏虚型OA的经典方药,该方出自《备急千金药方》。现代药理学研究表明,独活寄生汤能够延缓软骨退变,抑制软骨细胞凋亡的途径,明显改善KOA患者的临床症状^[66]。陈后煌等^[67]指出独活寄生汤能明显减少大鼠软骨细胞IL-1 β 和TNF- α 表达,认为其治疗OA的可能分子机制与降低异常升

表 1 单味中药调控 TNF 治疗 OA 作用

Table 1 Therapeutic effect of single Chinese herbal medicine on OA by regulating TNF

单味中药	有效成分	突出生物学效应	信号通路及相关介质
牛膝	牛膝总皂苷	抗骨质疏松、免疫调节、软骨修复	作用于 T 细胞受体、TNF、IL-17 等信号通路
	山柰酚		抑制 NF- κ B 信号通路
	蜕皮甾酮		抑制 NF- κ B p65
淫羊藿	淫羊藿苷	抑制破骨细胞、促进成骨细胞生长	作用于白细胞介素受体信号通路、TNF 信号通路、TLR4/NF- κ B 信号通路
	淫羊藿总黄酮		抑制 NF- κ B 信号通路, IL-6、IL-1 β 、TNF- α
当归	阿魏酸	加快血液流速,降低红细胞的聚集,缓解炎症部位局部的微循环障碍和微血管渗出	抑制 IL-1 β 、TNF- α 、MMP-1、MMP-13 相关信号通路
	蒿本内酯		抑制 PI3K/Akt/NF- κ B、PGE ₂ 、TNF- α 和 IL-6 等
	谷甾醇		抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路, TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6
	豆甾醇		抑制 NF- κ B 信号通路
	前胡素		抑制 PI3K/Akt/NF- κ B
丹参	木犀草素	促进软骨细胞增殖、改善微循环、清除自由基、抑制炎症因子	抑制 NF- κ B 信号通路, TNF- α 、NO、PGE ₂
	丹参酮 II _A		抑制 NF- κ B 信号通路, TNF 和 TRAF6
	隐丹参酮		抑制 MAPK、NF- κ B 信号通路, TNF- α
	丹参酮		抑制 iNOS, 提高 SOD 活性
补骨脂	新补骨脂异黄酮	抑制破骨细胞分化	抑制 RANK 对 TRAF6 的募集, NF- κ B、MAPKs、Akt 和钙离子通路

高的 IL-1 β 和 TNF- α 等的水平有关。许丽梅等^[68]发现独活寄生汤组 NF- κ B 蛋白核转位情况低于模型组,提出独活寄生汤可通过抑制 NF- κ B 蛋白核转位,抑制 NF- κ B 信号通路的激活,减少 IL-1 β 、TNF- α 的表达,抑制 MMPs 的生成,从而减轻软骨细胞炎症反应。吴广文等^[69]采用独活寄生汤含药血清干预退变软骨细胞模型后, iNOS、TNF- α 和 IL-6 含量均降低; TLR4、MyD88、TRAF6、NF- κ B p65 mRNA 及蛋白表达量均明显下降。因此,提出独活寄生汤含药血清可能通过调节 TLR4、MyD88、TRAF6 来调控 NF- κ B 信号通路表达,从而减少 iNOS、TNF- α 和 IL-6 表达,抑制 OA 炎症反应。杜津莉等^[70]研究表明独活寄生汤含药血清能减少 OA 大鼠滑膜细胞 TNF- α 表达,并呈剂量依赖性;能使脂氧素 A4 表达水平升高, AP-1、p-AP-1、JNK 及 p-JNK 表达水平下降,提示独活寄生汤含药血清可降低 TNF- α 等炎症因子表达,其作用机制可能与提高滑膜细胞脂氧素 A4 表达,抑制 JNK、AP-1 及其磷酸化通路有关。

痹祺胶囊由马钱子、党参、丹参、白术、茯苓、川芎、三七、地龙、甘草、牛膝 10 味中药组成,主要用于 OA 等中医“痹症”范畴疾病的治疗,多年以来,其临床疗效得到了广泛的认可。金钟浦^[71]对 80 例 OA 患者进行关节腔注射药物疗效观察,对照组单用玻璃酸钠,观察组给予痹祺胶囊联合玻璃酸钠治疗。结果表明,观察组总有效率明显较对照组高,两组

IL-1、TNF- α 、MMP-3 水平均低于治疗前,且观察组明显低于对照组。现代药理研究表明,痹祺胶囊具有抗炎、镇痛以及改善动脉血流、调节骨胶原代谢、促进软骨修复等作用^[72]。刘丽娟等^[73]通过研究痹祺胶囊水、石油醚和正丁醇的提取物对脂多糖诱导的 RAW264.7 细胞模型的抗炎作用,指出 3 种提取物均能显著抑制 RAW264.7 细胞分泌 NO 和 TNF- α , 其中水提取物的抑制作用最强,且剂量依赖性最显著。

陶帅^[74]研究结果显示补肾活血方显著抑制软骨细胞 TRAF3 蛋白及其 mRNA 的相对表达,推测该方通过 TRAF3 抑制 Akt/mTOR 信号通路,进而增强软骨细胞自噬反应起到保护软骨的作用。

5 结语和展望

骨性关节炎病因复杂,临床上缺乏有效的治疗手段和方法。目前西医针对 OA 的用药治疗多为对症治疗,且不良反应较大、用药周期较长、价格昂贵,患者耐受性较差。这使得中医辨证论治的疗法越来越受重视,但是,中医药治疗 OA 的研究主要集中于临床疗效,对其有效成分、作用靶点及分子机制等深入的现代中药药理学研究仍然不足。在中医看来,不同证型的 OA 之间存在明显差异,各个证型的 OA 患者 TNF 的表达水平、诱导机制等方面也不尽相同。研究并找出中药治疗 OA 与 TNF 的内在规律,将中药用药上升到现代医学角度,对于更好

的发挥中医中药治疗OA的优势有重要意义。未来的研究如果能对中药治疗OA的作用机制有更深层次、更详尽的认识,将会为中药治疗OA的临床应用和开发新的中药制剂提供支持。

[参考文献]

- [1] 王斌,邢丹,董圣杰,等. 中国膝骨关节炎流行病学和疾病负担的系统评价[J]. 中国循证医学杂志, 2018, 18(2):134-142.
- [2] 中华医学会骨科学分会关节外科学组. 骨关节炎诊疗指南(2018年版)[J]. 中华骨科杂志, 2018, 38(12):705-715.
- [3] 李涛. 辨病辨证相结合治疗膝骨关节炎临床观察[D]. 济南:山东中医药大学, 2011.
- [4] 叶芳,叶晋华,叶欣. 辨证施治膝骨性关节炎81例[J]. 陕西中医, 2005(12):1302-1303.
- [5] 邓伟. 补脾益肾化痰法治疗膝骨关节炎[J]. 中药材, 2003, 26(7):535-537.
- [6] 梁桂洪,梁祖建,林勇凯,等. 补肾活血中药对比塞来昔布治疗膝骨性关节炎疗效与安全性的Meta分析[J]. 中国药房, 2016, 27(27):3810-3813, 3814.
- [7] 吴泳昕,肖泓,吴生元. 补中桂枝汤治疗退行性骨关节炎83例[J]. 四川中医, 2002, 20(2):63-64.
- [8] 陈广祯,李心沁,梁安民. 从瘀血痰湿论治膝关节骨性关节炎58例[J]. 山东中医药大学学报, 1998(1):31-32.
- [9] 吕国光. 连建伟教授运用独活寄生汤治疗痹症经验[J]. 浙江中西医结合杂志, 2009, 19(11):687.
- [10] 邓平征,夏启水,陶丽娟. 中药独活寄生汤加减对膝骨性关节炎患者的疗效及其对炎症因子水平的影响[J]. 抗感染药学, 2017, 14(7):1393-1396.
- [11] WESTACOTT C I, SHARIF M. Cytokines in osteoarthritis: Mediators or markers of joint destruction?[J]. Semin Arthritis Rheum, 1996, 25(4):254-272.
- [12] CARSWELL E A, OLD L J, KASSEL R L, et al. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1975, 72(9):3666-3670.
- [13] 冯速,邱樊,张壮壮,等. 肿瘤坏死因子家族及其相关药物的研究进展[J]. 药学进展, 2016, 40(4):284-292.
- [14] AYUSO E, MINGOZZI F, BOSCH F. Production, purification and characterization of adeno-associated vectors[J]. Curr Gene Ther, 2010, 10(6):423-436.
- [15] 冯馨锐,崔雨舒,何志涛,等. 肿瘤坏死因子- α 的生物学功能研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2019, 40(1):66-68.
- [16] KAPOOR M, MARTEL-PELLETIER J, LAJEUNESSE D, et al. Role of proinflammatory cytokines in the pathophysiology of osteoarthritis[J]. Nat Rev Rheumatol, 2011, 7(1):33-42.
- [17] ROMAN-BLAS J A, JIMENEZ S A. NF-kappaB as a potential therapeutic target in osteoarthritis and rheumatoid arthritis [J]. Osteoarthr Cartil, 2006, 14(9):839-848.
- [18] MARCU K B, OTERO M, OLIVOTTO E, et al. NF-kappaB signaling: Multiple angles to target OA [J]. Curr Drug Targets, 2010, 11(5):599-613.
- [19] GUICCIARDI M E, GORES G J. Life and death by death receptors [J]. FASEB J, 2009, 23(6):1625-1637.
- [20] GOUKASSIAN D A, QIN G, DOLAN C, et al. Tumor necrosis factor-alpha receptor p75 is required in ischemia-induced neovascularization [J]. Circulation, 2007, 115(6):752-762.
- [21] MARCHETTI L, KLEIN M, SCHLETT K, et al. Tumor necrosis factor (TNF) -mediated neuroprotection against glutamate-induced excitotoxicity is enhanced by *N*-methyl-*D*-aspartate receptor activation. Essential role of a TNF receptor 2-mediated phosphatidylinositol 3-kinase-dependent NF-kappa B pathway [J]. J Biol Chem, 2004, 279(31):32869-32881.
- [22] CHEN X, BÄUMEL M, MÄNNEL D N, et al. Interaction of TNF with TNF receptor type 2 promotes expansion and function of mouse CD4⁺CD25⁺ T regulatory cells [J]. J Immunol, 2007, 179(1):154-161.
- [23] SINGH U, KUMAR A, SINHA R, et al. Calreticulin transacetylase catalyzed modification of the TNF-alpha mediated pathway in the human peripheral blood mononuclear cells by polyphenolic acetates [J]. Chem Biol Interact, 2010, 185(3):263-270.
- [24] LI X, HUANG Q, ONG C N, et al. Chrysin sensitizes tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis in human tumor cells via suppression of nuclear factor-kappaB [J]. Cancer Lett, 2010, 293(1):109-116.
- [25] 陈根强,许慧娟,汪志明,等. 骨性关节炎患者中血清与关节液的炎性因子水平变化及意义[J]. 武汉大学学报:医学版, 2014, 35(1):110-113.
- [26] 高坤,陈大宇,张勇,等. 牛膝醇提物调控滑膜成纤维细胞外泌体抑制软骨细胞外基质降解[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(23):3636-3640.
- [27] JOOSTEN L A, HELSEN M M, VAN DE LOO F A, et al. Anticytokine treatment of established type II

- collagen-induced arthritis in DBA/1 mice: A comparative study using anti-TNF α , anti-IL-1 α /beta and IL-1Ra[J]. *Arthritis Rheum*, 2008, 58(2 Suppl):S110-122.
- [28] GUERNE P A, CARSON D A, LOTZ M. IL-6 production by human articular chondrocytes. Modulation of its synthesis by cytokines, growth factors, and hormones *in vitro* [J]. *J Immunol*, 1990, 144(2):499-505.
- [29] LOTZ M, TERKELTAUB R, VILLIGER P M. Cartilage and joint inflammation. Regulation of IL-8 expression by human articular chondrocytes [J]. *J Immunol*, 1992, 148(2):466-473.
- [30] VILLIGER P M, TERKELTAUB R, LOTZ M. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) expression in human articular cartilage. Induction by peptide regulatory factors and differential effects of dexamethasone and retinoic acid [J]. *J Clin Invest*, 1992, 90(2):488-496.
- [31] SAKLATVALA J. Tumour necrosis factor alpha stimulates resorption and inhibits synthesis of proteoglycan in cartilage [J]. *Nature*, 1986, 322(6079):547-549.
- [32] SÉGUIN C A, BERNIER S M. TNF α suppresses link protein and type II collagen expression in chondrocytes: Role of MEK1/2 and NF- κ B signaling pathways[J]. *J Cell Physiol*, 2003, 197(3):356-369.
- [33] LEFEBVRE V, PEETERS-JORIS C, VAES G. Modulation by interleukin 1 and tumor necrosis factor alpha of production of collagenase, tissue inhibitor of metalloproteinases and collagen types in differentiated and dedifferentiated articular chondrocytes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1990, 1052(3):366-378.
- [34] REBOUL P, PELLETIER J P, TARDIF G, et al. The new collagenase, collagenase-3, is expressed and synthesized by human chondrocytes but not by synoviocytes. A role in osteoarthritis[J]. *J Clin Invest*, 1996, 97(9):2011-2019.
- [35] ZHAO Y P, LIU B, TIAN Q Y, et al. Progranulin protects against osteoarthritis through interacting with TNF- α and β -catenin signalling[J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74(12):2244-2253.
- [36] GOLDRING M B, OTERO M, PLUMB D A, et al. Roles of inflammatory and anabolic cytokines in cartilage metabolism: Signals and multiple effectors converge upon MMP-13 regulation in osteoarthritis [J]. *Eur Cell Mater*, 2011, 21:202-220.
- [37] KOOPMAN W J, MORELAND L W. Arthritis and allied conditions: A textbook of rheumatology 15th edition [M]. USA: Lippincott Williams & Wilkins, 2004:2199-2226.
- [38] MATHY-HARTERT M, HOGGE L, SANCHEZ C, et al. Interleukin-1beta and interleukin-6 disturb the antioxidant enzyme system in bovine chondrocytes: A possible explanation for oxidative stress generation[J]. *Osteoarthr Cartil*, 2008, 16(7):756-763.
- [39] SCOTT J L, GABRIELIDES C, DAVIDSON R K, et al. Superoxide dismutase downregulation in osteoarthritis progression and end-stage disease [J]. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69(8):1502-1510.
- [40] MAGNANO M D, CHAKRAVARTY E F, BROUDY C, et al. A pilot study of tumor necrosis factor inhibition in erosive/inflammatory osteoarthritis of the hands[J]. *J Rheumatol*, 2007, 34(6):1323-1327.
- [41] CHAN E K, CERIBELLI A, SATOH M. MicroRNA-146a in autoimmunity and innate immune responses [J]. *Ann Rheum Dis*, 2013, 72(Suppl 2):ii90-ii95.
- [42] 林平冬, 翁霞萍, 刘发元, 等. 牛膝有效成分防治骨关节炎的作用机制探讨[J]. *风湿病与关节炎*, 2015, 4(2):56-59.
- [43] 魏锦强, 孙赫, 曹学伟, 等. 牛膝治疗骨关节炎作用机制的网络药理学探讨[J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31(9):1052-1060.
- [44] ZHUANG Z, YE G, HUANG B. Kaempferol alleviates the interleukin-1 β -induced inflammation in rat osteoarthritis chondrocytes via suppression of NF- κ B [J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23:3925-3931.
- [45] 周运江, 王虎, 李丽, 等. 山柰酚对脂多糖诱导的肥大细胞炎症反应的抑制作用[J]. *药学学报*, 2015, 50(6):702-707.
- [46] 卢伟达, 任杰, 张志宏, 等. 单味中药治疗骨质疏松症及骨关节炎研究进展[J]. *河南中医*, 2021, 41(3):478-482.
- [47] 章晓云, 张驰, 宋世雷, 等. 基于网络药理学和蛋白模块分析淫羊藿治疗骨关节炎的作用与机制[J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(17):2660-2666.
- [48] 吴迎春, 吕刚, 依力潘·凯赛尔, 等. 淫羊藿总黄酮联合硫酸氨基葡萄糖对膝骨关节炎疗效临床研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23(9):1195-1198.
- [49] 秦丰伟, 黄荷, 焦锋, 等. 淫羊藿苷和骨髓间充质干细胞共育液对兔骨关节炎模型关节液中 IL-1、TNF- α 、IL-10、MMP-3 表达的影响[J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(17):2876-2879.
- [50] 余永林, 吴家顺, 热合米丁·艾买提, 等. 淫羊藿甙干预脂肪间充质干细胞修复膝骨性关节炎的作用及相

- 关机制研究[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(3): 301-306.
- [51] MI B, WANG J, LIU Y, et al. Icarin activates autophagy via down-regulation of the NF- κ B signaling-mediated apoptosis in chondrocytes [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:605.
- [52] 金剑飞,何维英,周钰龙. 淫羊藿总黄酮对膝关节骨性关节炎大鼠核因子- κ B通路的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2020, 28(3):5-9, 14.
- [53] CHEN M P, YANG S H, CHOU C H, et al. The chondroprotective effects of ferulic acid on hydrogen peroxide-stimulated chondrocytes: Inhibition of hydrogen peroxide-induced pro-inflammatory cytokines and metalloproteinase gene expression at the mRNA level[J]. *Inflamm Res*, 2010, 59(8):587-595.
- [54] ZHOU Y, MING J, LI Y, et al. Ligustilide attenuates nitric oxide-induced apoptosis in rat chondrocytes and cartilage degradation via inhibiting JNK and p38 MAPK pathways[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(5): 3357-3368.
- [55] 郭光鑫,孙颖,栾海鹏,等. 基于网药学方法探究透脓散治疗慢性骨髓炎的分子作用机制[J]. 世界中医药, 2022, 17(6):773-778.
- [56] YIN Y, LIU X, LIU J, et al. Beta-sitosterol and its derivatives repress lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced acute hepatic injury by inhibiting the oxidation and inflammation in mice[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28(9):1525-1533.
- [57] GABAY O, SANCHEZ C, SALVAT C, et al. Stigmasterol: A phytosterol with potential anti-osteoarthritic properties [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(1):106-116.
- [58] HE L, PAN Y, YU J, et al. Decursin alleviates the aggravation of osteoarthritis via inhibiting PI3K-Akt and NF- κ B signal pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 97:107657.
- [59] SHI X, ZHANG H, HU Y, et al. Mechanism of *Salvia Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* in the treatment of knee osteoarthritis based on network pharmacology [J]. *Nat Prod Commun*, 2020, doi: 10.21203/rs.3.rs-75437/v1.
- [60] FEI J, LIANG B, JIANG C, et al. Luteolin inhibits IL-1 β -induced inflammation in rat chondrocytes and attenuates osteoarthritis progression in a rat model[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109:1586-1592.
- [61] TANG S, SHEN X Y, HUANG H Q, et al. Cryptotanshinone suppressed inflammatory cytokines secretion in RAW264.7 macrophages through inhibition of the NF- κ B and MAPK signaling pathways [J]. *Inflammation*, 2011, 34(2):111-118.
- [62] 洪瑛,晏为华,刘修树. 丹参酮II_A下调NF- κ B信号通路发挥对IL-1 β 所致软骨细胞损伤的保护作用[J]. 海峡药学, 2021, 33(6):4-8.
- [63] 庄园. 丹参酮对膝骨性关节炎模型细胞活性及氧自由基代谢的影响[D]. 广州:暨南大学, 2007.
- [64] 陈辉文. 新补骨脂异黄酮抑制破骨细胞分化、减轻小鼠去卵巢后骨质丢失的作用及机制研究[D]. 上海:中国人民解放军海军军医大学, 2021.
- [65] 陈卫衡. 重视循证医学证据,规范膝骨关节炎中医诊疗[J]. 中医正骨, 2021, 33(4):1-3.
- [66] LIU F, WENG X, LIN P, et al. Duhuo Jisheng decoction inhibits endoplasmic reticulum stress in chondrocytes induced by tunicamycin through the downregulation of miR-34a[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36(5):1311-1318.
- [67] 陈后煌,邵翔,叶蕪芝,等. 独活寄生汤对脂多糖诱导的大鼠软骨细胞炎症模型IL-1 β 、TNF- α 表达的影响[J]. 中华老年骨科与康复电子杂志, 2017, 3(2): 77-84.
- [68] 许丽梅,李慧,许云腾,等. 基于NF- κ B信号通路探讨独活寄生汤抑制脂多糖诱导的软骨细胞炎症反应的作用机制[J]. 中医正骨, 2019, 31(7):9-14, 20.
- [69] 吴广文,邱建清,刘淑如,等. 独活寄生汤含药血清对大鼠退变软骨细胞TLR4/NF- κ B信号通路的影响[J]. 亚太传统医药, 2019, 15(11):28-32.
- [70] 杜津莉,樊炜骏,李建,等. 独活寄生汤含药血清对膝关节OA大鼠滑膜细胞TNF- α 、IL-6、IL-8、IL-10表达的影响及其机制[J]. 山东医药, 2017, 57(44):14-17.
- [71] 金钟浦. 痹祺胶囊联合玻璃酸钠关节腔注射对膝骨关节炎患者炎症反应及骨关节炎评分的影响[J]. 药品评价, 2020, 17(18):31-33.
- [72] 吴沅峰,刘维,刘晓亚,等. 痹祺胶囊对兔骨关节炎软骨代谢的作用研究[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(8):1608-1610.
- [73] 刘丽娟,王允亮,许树青,等. 靛玉红、色胺酮对LPS诱导RAW264.7炎症细胞模型的抗炎作用研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2015(8):1069-1072.
- [74] 陶帅. 基于天癸理论的补肾活血方治疗绝经后膝骨关节炎的疗效与机制[D]. 南京:南京中医药大学, 2021.

[责任编辑 周冰冰]