

人参皂苷 Rg5 对膝骨性关节炎模型大鼠软骨细胞和基质的影响

樊孝俊^{1△} 何维佳¹ 叶海程¹ 苏春涛¹

[摘要] 目的:观察人参皂苷 Rg5(G-Rg5)对膝骨性关节炎(KOA)大鼠模型的关节软骨细胞、糖胺聚糖(GAG)代谢的影响。方法:采用离断前交叉韧带造模 24 只膝骨性关节炎模型大鼠,分为空白对照组(NC 组)、生理盐水组(NS 组)及关节腔注射不同浓度人参皂苷的 3 μ g 和 10 μ g G-Rg5 组,每周注射 2 次,重复 6 周。组织形态学观察采用苏木精-伊红(HE)染色和番红 O-固绿染色,评估改良的 Mankin 评分(MMS)、软骨细胞计数、软骨厚度及软骨基质糖胺聚糖含量。结果:组织形态学染色可见 NS 组软骨表面粗糙甚至局部缺损,基质染色不均,软骨细胞簇集,软骨层次不清晰,潮线消失,呈明显骨性关节炎样改变。相比 NS 组,10 μ g G-Rg5 组软骨表面相对平整,基质染色均匀,潮线存在,软骨细胞数、软骨厚度和糖胺聚糖含量明显升高,MMS 明显降低($P < 0.05$),甚至 MMS 和糖胺聚糖含量接近 NC 组($P > 0.05$)。而 3 μ g G-Rg5 组软骨表面不平整,基质染色不均,呈轻度骨性关节炎样特点,全层软骨细胞数和软骨厚度、糖胺聚糖含量无明显升高($P > 0.05$)。结论:G-Rg5 对膝骨性关节炎具有保护作用,可以改善或延缓关节软骨损伤,且呈剂量依赖性抑制膝骨性关节炎模型大鼠的关节软骨细胞凋亡和基质糖胺聚糖含量减少。

[关键词] 膝骨性关节炎;人参皂苷 Rg5;软骨细胞;软骨基质

[中图分类号] R684.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2022)10-0013-05

Efficacy of Ginsenoside-Rg5 on Chondrocytes and Cartilage Matrix in Rats with Knee Osteoarthritis Model

FAN Xiaojun^{1△} HE Weijia¹ YE Haicheng¹ SU Chuntao¹

¹Department of Rehabilitation Medicine, First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen 361003, Fujian China.

Abstract Objective: To observe the efficacy of ginsenoside-Rg5 (G-Rg5) on the metabolism of articular chondrocytes and glycosaminoglycans in rats with knee osteoarthritis (KOA). **Methods:** 24 KOA model rats established by transecting anterior cruciate ligament were divided into the normal control group (NC), the normal saline group (NS), the 3 μ g G-Rg5 group and 10 μ g G-Rg5 group. All injection was carried out twice a week for 6 weeks. The cartilage morphology was evaluated by hematoxylin-eosin (HE) staining and Safranin O-Fast Green staining. Modified Mankin's scores (MMS), cartilage glycosaminoglycans (GAG) content, number of chondrocyte and cartilage thickness were evaluated. **Results:** Histological staining showed that the NS group had rough surface or even local defects, uneven coloration cartilage matrix, chondrocyte clustering, unclear cartilage layers, tidemark disappearance and presenting obvious characteristics of osteoarthritis-like changes. Compared with NS group, 10 μ g G-Rg5 group had a relatively smooth cartilage surface, uniform coloration cartilage matrix, present tidemark line and significant improvement of the number of chondrocytes, cartilage thickness and GAG content, and its MMS was significantly decreased ($P < 0.05$). 10 μ g G-Rg5 group in cartilage MMS and GAG content closed to NC group ($P > 0.05$). However, the 3 μ g G-Rg5 group had uneven cartilage surface and uneven coloration cartilage matrix, mild osteoarthritis-like characteristics, and the number of full-layer chondrocytes, cartilage thickness and GAG content in 3 μ g G-Rg5 group were not significantly increased ($P > 0.05$). **Conclusion:** G-Rg5 had a protective efficacy on KOA and can improve or delay articular cartilage injury, and inhibit chondrocyte apoptosis and lose of GAG content of KOA model rats in a dose-dependent manner.

Keywords: knee osteoarthritis; ginsenoside-Rg5; chondrocytes; cartilage matrix

基金项目:福建中医药大学校管课题(XB2021088)

¹ 厦门大学附属第一医院康复医学科(福建 厦门, 361003)

[△]通信作者 E-mail: fanxj@xmu.edu.cn

膝骨性关节炎(Knee Osteoarthritis, KOA)是典型的软骨进行性改变的慢性骨关节疾病,其病理特征为软骨下骨基质改变、软骨降解和滑膜无菌性炎症,临床症状主要表现为关节疼痛、肿胀、僵硬、活动受限及畸形,严重影响患者的生活能力^[1]。

人参是常见的我国传统中草药之一,在防治癌症、抑郁和糖尿病等方面具有重要的药用价值^[2]。在《医宗金鉴》补筋丸等方剂中与牛膝、菟丝子等组方,具有补肾壮筋,益气养血,适用于跌仆伤筋,血脉壅滞者。现代药理研究发现人参皂苷(Ginsenosides)是人参的主要活性成分^[3],多达 40 余种生物活性的人参皂苷,其中 Ginsenoside-Rg5 有很好的抗癌、抗炎、抗衰的药理作用^[4-5],对人类骨肿瘤细胞增殖具有剂量依赖性抑制作用^[6-7],有研究者发现 Ginsenoside-Rg5 可以改善骨关节炎大鼠的关节软骨中蛋白多糖、胶原蛋白含量^[8]。本研究观察 Ginsenoside-Rg5 对膝骨性关节炎大鼠的软骨基质损伤、软骨细胞及糖胺聚糖代谢的影响及可能机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

由福建中医药大学实验动物中心提供,并于动物实验中心进行,24 只健康雄性 SD(Sprague Dawley)大鼠,初始体重为 180~220 g,毛色光亮顺滑,行动自如,无应激等反应,饮食正常,大便成形有光泽,饲养环境室温为 20~25 ℃,湿度为 40%~60%,光照周期为 12 h/12 h。试验全程对动物的处理方法符合《关于善待实验动物的指导性意见》。

1.2 动物分组、造模

1)24 只清洁级雄性成年 SD 大鼠适应性喂食 1 周,按照随机数字表分为正常对照组(NC 组,6 只)、造模组(3 μg G-Rg5 组 6 只、10 μg G-Rg5 组 6 只、生理盐水组 6 只)。2)大鼠术前禁食禁水 12 h,将 10%水合氯醛溶液按照 30 mg/kg 剂量行腹腔注射麻醉。参照改良 Hulth 手术造模方法^[9],对造模组大鼠进行右后肢前交叉韧带切断术(Anterior Cruciate Ligament Transection, ACLT)。将麻醉成功的大鼠仰卧于操作板上,右侧膝关节备皮常规消毒,手术刀逐层切开右髌旁内侧位置的皮肤、皮下组织,找到白色的髌韧带,沿其内侧切开关节囊,过伸膝关节使髌骨外侧脱位,推开髌骨、髌韧带,屈曲右膝关节找到膝前交叉韧带。换用 11 号手术刀切断前交叉韧带,抽屉试验阳性代表已完全切断,注意手术过程不能损伤软骨面。生理盐水冲洗术区,将髌骨复位,彻底止血并缝合前滴入少量青霉素溶液,缝合伤口,纱布包扎,术后连续 3 d 肌注青霉素,隔日伤口换药。NC 组大鼠被一样抓取,麻醉仰卧于操作板上不进行关节手术。术后第 2 天动物跛行,

无伤口感染征象,常规饲养 1 周待术口愈合后开始药物实验。

1.3 方法

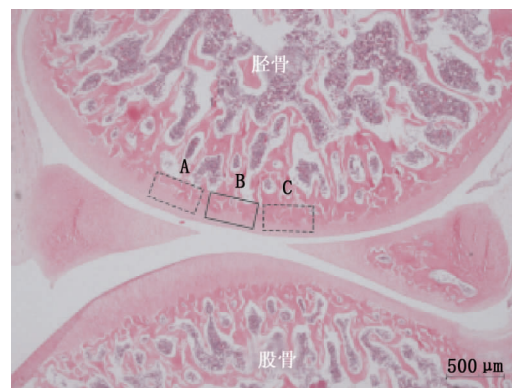
1.3.1 给药

人参皂苷 Rg5(英文名 Ginsenoside-Rg5,缩写为 G-Rg5,分子式为 C₄₂H₇₀O₁₂,成都仪睿生物科技, YRR029 20 mg,高效液相色谱法(HPLC)纯度≥98%,化学物质登记号(CAS 号)为 186763-78-0),贮存条件为 2~8 ℃冷藏、干燥、密封、避光。刮干净大鼠膝关节周边区域的毛发,安尔碘消毒,将大鼠仰卧位固定在操作台上,屈曲右侧膝关节 45°,针向内偏上沿着髌骨下极与白色髌腱外缘交点进针,持针角度与桌面平行,与胫骨平台角度为 45°,感觉抵达股骨髁后回撤 2 mm 再注射。3 μg G-Rg5 组关节腔注射 0.15 mL 的 3 μg/kg G-Rg5,10 μg G-Rg5 组关节腔注射 0.15 mL 的 10 μg/kg G-Rg5,NC 组关节腔内不给药,NS 组关节腔注射 0.3 mL 的 0.9%生理盐水,每周一和周四分别注射 1 次,强迫每日跑台运动,速度为 15 m/min,坡度为 0°,持续运动 60 min,每天 1 次,促使软骨损伤形成膝骨性关节炎^[10],重复 6 周后统一处死。

1.3.2 观察指标

1.3.2.1 软骨损伤程度 大鼠右侧膝关节取材、脱钙、固定、透明、浸蜡、石蜡包埋等处理后,正中矢状位切取 4 μm 的组织切片,载玻片经多聚赖氨酸处理放入烤箱烘烤 3 h 后,行苏木精-伊红(HE)染色。两位研究者分别参照改良的 Mankin 评分(Modified Mankin's Scores, MMS)标准^[11],由两位观察者分别对组织切片进行评分,取两者平均值为最终分数。

1.3.2.2 软骨细胞计数 上述切片 HE 染色后,选接触区的照片(放大 400 倍),取 300 μm×400 μm 的矩形区域,以及接触区左右各 400 μm 范围构成软骨全层,两名研究者分别手工计算区域内的软骨细胞数,误差需在 5 个以内,两者的平均值为最终分数,见图 1。



注: B 为接触区, A、B、C 共为软骨全层

图 1 大鼠膝关节正中矢状位切片

1.3.2.3 糖胺聚糖含量 组织切片按照上述步骤脱蜡后,行番红 O-固绿染色,中性树脂封片,镜下观察并

拍摄。采用 Image-Pro plus 6.0 (IPP 6.0) 图像分析软件绘制软骨表面与软骨与骨的分界线,所围成的区域为软骨全层,并在接触区(放大 400 倍)上测定番茄 O-固绿染色的平均光密度值,代表糖胺聚糖含量。

1.3.2.4 软骨厚度 通过 IPP 软件测量接触区照片中点处,测软骨表面至软骨与骨分界线的距离,再以中点为中心左右各旁开 1 个和 2 个 150 μm 测软骨厚度,测得 5 个的平均值为该区域的总厚度。

1.4 统计学方法

采用 SPSS20.0 统计软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 形式表示,多组间比较采用单因素方差分析,两

两比较采用 LSD 检验, $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 关节软骨组织形态学观察

组织形态学观察 HE 染色见图 2,参照 NC 组的软骨表面光滑,软骨细胞排列规整,软骨层次清晰的特点,10 μg G-Rg5 组的软骨表面平整,软骨细胞分布相对均匀,局部可见簇集,软骨层次可见;3 μg G-Rg5 组软骨表面不平整,基质染色不均匀,呈轻度骨性关节炎样改变;而 NS 组软骨表面粗糙,甚至局部出现缺损,基质组织染色不均,软骨细胞稀疏,排列呈簇集特点,软骨层次不清晰,潮线消失,呈明显骨性关节炎样改变。

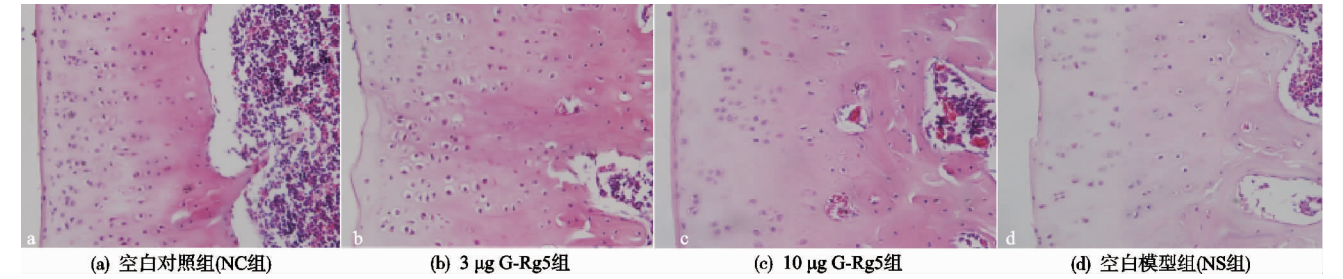


图 2 HE 染色图片($\times 400$)

2.2 软骨损伤程度

本研究通过软骨损伤主观评分方法及客观测量(如软骨细胞数、软骨厚度),来反映膝骨性关节炎大鼠的软骨损伤程度(见表 1)。软骨全层和接触区的 MMS 采用单因素方差分析,显示各组间差异有统计学意义($F=21.8, P<0.001; F=30.64, P<0.001$)。相比于 NC 组,与 10 μg G-Rg5 组评分差异无统计学意义($P=0.5791, P=0.6691$),而 3 μg G-Rg5 组和 NS 组的 MMS 显著升高,差异有统计学意义($P=0.0133, P<0.001; P<0.001, P<0.001$),干预组间比较 MMS 从大到小依次为 10 μg G-Rg5 组、3 μg G-Rg5 组、NS 组,三者间差异有统计学意义($P<0.05$)。

软骨全层细胞数采用单因素方差分析,显示各组间差异有统计学意义($F=15.22, P<0.001$);相比于 NC 组,3 μg G-Rg5 组、10 μg G-Rg5 组、NS 组均依次明显降低,差异有统计学意义($P=0.0034, P=0.0454, P<0.001$);而干预组间比较显示,10 μg G-Rg5 组的细胞数高于 3 μg G-Rg5 组和 NS 组,差异有统计学意义($P=0.0453, P=0.0002$),后两者间差异无统计学意义($P=0.1547$)。接触区软骨细胞数采

用单因素方差分析,结果显示各组间差异有统计学意义($F=15.88, P<0.001$);与 NC 组相比,3 μg G-Rg5 组、10 μg G-Rg5 组、NS 组均依次显著降低,差异有统计学意义($P=0.002, P=0.045, P<0.001$),三者间差异有统计学意义($P<0.05$)。

在软骨厚度全层方面采用单因素方差分析,显示各组间差异有统计学意义($F=13.05, P<0.001$);相比于 NC 组,10 μg G-Rg5 组、3 μg G-Rg5 组、NS 组均依次显著降低,差异有统计学意义($P=0.003, P=0.0499, P=0.0002$);而干预组间比较发现,10 μg G-Rg5 组的软骨厚度显著大于 NS 组,差异有统计学意义($P=0.0022$),其余差异无统计学意义($P>0.05$)。软骨厚度接触区采用单因素方差分析,显示各组间差异有统计学意义($F=12.84, P<0.001$);相比于 NC 组,10 μg G-Rg5 组、3 μg G-Rg5 组、NS 组均依次显著降低,差异有统计学意义($P=0.0021, P=0.0446, P<0.001$);而 NS 组的软骨厚度明显低于 3 μg G-Rg5 组和 10 μg G-Rg5 组,差异有统计学意义($P=0.0497, P=0.007$),而后两者间差异无统计学意义($P=0.1574$)。

表 1 各实验组大鼠膝关节软骨损伤程度($\bar{x}\pm s, n=6$)

项目		NC 组	3 μg G-Rg5 组	10 μg G-Rg5 组	NS 组
MMS	软骨全层	1.28 \pm 0.76	4.81 \pm 2.78 ¹³⁾	1.54 \pm 0.81 ⁴⁾	9.33 \pm 2.56 ²⁾
	接触区	1.31 \pm 0.73	4.67 \pm 0.52 ²³⁾	1.51 \pm 0.84 ⁴⁾	10.35 \pm 3.45 ²⁾
软骨细胞数	软骨全层	138.17 \pm 21.59	87.68 \pm 24.09 ²⁾	113.92 \pm 14.48 ¹³⁾	70.92 \pm 11.43 ²⁾
	接触区	128.88 \pm 20.59	85.45 \pm 15.46 ²³⁾	104.4 \pm 16.40 ¹³⁾	67.28 \pm 10.94 ²⁾
软骨厚度	软骨全层	262.48 \pm 43.41	168.97 \pm 39.88 ²⁾	212.09 \pm 34.40 ¹⁴⁾	133.17 \pm 32.72 ²⁾
	接触区	256.25 \pm 46.91	159.63 \pm 33.19 ²³⁾	194.87 \pm 45.69 ¹⁴⁾	116.75 \pm 33.38 ²⁾

注:与 NC 组相比,1) $P<0.05$,2) $P<0.01$;与 NS 组相比,3) $P<0.05$,4) $P<0.01$ 。

2.3 软骨基质中糖胺聚糖的含量

组织番红 O-固绿染色见图 3,测定平均光密度值代表糖胺聚糖含量(见表 2)。可见 NC 组的软骨表面光滑,基质染色深紫色,颜色分布均匀,软骨层次和潮线清晰。10 μg G-Rg5 组的软骨表面平整,基质染色紫色,颜色均匀度欠佳,潮线存在。3 μg G-Rg5 组软骨表面有毛糙感,基质染色呈浅紫色,潮线消失。NS 组软骨表面破损,基质染色呈淡紫色,潮线消失。

在软骨全层、接触区的糖胺聚糖含量采用单因素方差分析,结果显示各组间差异有统计学意义($F=$

9.907, $P=0.003$; $F=9.366$, $P=0.0005$)。进一步采用两两检验结果显示,相比于 NC 组,3 μg G-Rg5 组的糖胺聚糖含量明显降低,差异有统计学意义($P=0.0033$, $P=0.0029$);10 μg G-Rg5 组的糖胺聚糖含量与 NC 组差异无统计学意义($P=0.6805$, $P=0.8694$);NS 组的糖胺聚糖含量显著降低,差异有统计学意义($P=0.0021$, $P=0.0022$)。相比于 NS 组,3 μg G-Rg5 组的糖胺聚糖含量虽有所升高,但两者间差异无统计学意义($P=0.4972$, $P=0.6248$),10 μg G-Rg5 组的糖胺聚糖含量明显增多,差异有统计学意义($P=0.0035$, $P=0.0049$)。

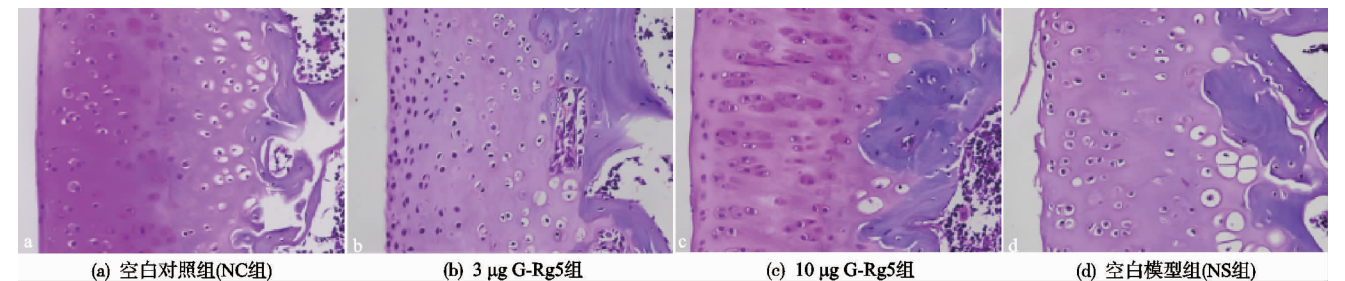


图 3 番红 O-固绿染色图片($\times 400$)

表 2 各实验组大鼠膝关节 GAG 平均光密度值($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

部位	NC 组	3 μg G-Rg5 组	10 μg G-Rg5 组	NS 组
软骨全层	0.135 \pm 0.025	0.083 \pm 0.219 ⁰²⁾	0.129 \pm 0.024 ⁰⁴⁾	0.073 \pm 0.027 ⁰²⁾
接触区	0.137 \pm 0.029	0.082 \pm 0.018 ⁵²⁾	0.134 \pm 0.032 ⁵⁴⁾	0.076 \pm 0.022 ⁵²⁾

注:与 NC 组相比,1) $P<0.05$,2) $P<0.01$;与 NS 组相比,3) $P<0.05$,4) $P<0.01$ 。

3 讨论

3.1 人参在中医“痹病”中的应用

人参味甘,微苦,性微温,具有大补元气、调补五脏、生津固脱等功效,在中医药史上应用已近两千年。膝骨性关节炎表现为关节疼痛、肿胀、僵硬、活动受限,与“痹病”范畴相通,中医认为“痹病”多由风寒湿热之邪气侵袭经络血脉,瘀阻不通则痛,迁延不愈则经脉凝滞,则肝肾亏虚,筋骨失养,致生本病。因此外以祛风湿、内以活血化瘀、补气养血是中医治疗骨痹的基本理论。骨痹的经典方剂中常含有人参,发挥其大补元气、生津养血等功效。如在《医宗金鉴》补筋丸以人参与牛膝、菟丝子等组方,具有补肾壮筋,益气养血,适用于跌仆伤筋,血脉阻滞者。《兰台轨范》龟鹿二仙胶汤以人参合用龟鹿以助阳益气养血填精,《三因极一病证方论》人参养荣丸以补气养血,适用于骨病后期气血虚弱、肝肾亏虚者。而现代医学研究表明人参皂苷是人参的主要活性成分,对骨性关节炎具有显著的药理活性,因此本文据此展开研究。

3.2 人参皂苷-5 对膝骨性关节炎具有保护作用

本研究发现 G-Rg5 可以改善或延缓关节软骨损伤,相比 NC 组,组织学染色可见软骨表面相对平整,软骨细胞分布较均匀,软骨层次存在,其中 3 μg

G-Rg5 组软骨表面不平整,基质染色不均,呈轻度骨性关节炎炎样特点。而 10 μg G-Rg5 组较 NS 组,软骨细胞数、软骨厚度和糖胺聚糖含量明显升高,MMS 明显降低,提示 G-Rg5 可以通过减少软骨细胞的凋亡、改善基质的糖胺聚糖含量,来减缓膝骨性关节炎模型大鼠的关节软骨损伤。进一步对比发现 10 μg G-Rg5 组明显优于 3 μg G-Rg5 组的 MMS 和软骨细胞数,而 3 μg G-Rg5 组的软骨细胞数和厚度及糖胺聚糖含量相比 NS 组无明显升高,说明 G-Rg5 呈剂量依赖性抑制膝骨性关节炎模型大鼠的关节软骨细胞凋亡和基质糖胺聚糖减少,10 μg G-Rg5 对膝骨性关节炎具有保护作用。软骨细胞和软骨基质是关节软骨的两大重要构成部分,软骨基质通过弥散营养软骨细胞,软骨细胞分泌胶原纤维和蛋白多糖来修补关节软骨基质,调控基质如糖胺聚糖等的合成与代谢速度,维持关节软骨的完整结构,发挥负重、润滑、减少关节面摩擦和吸收机械震荡等作用。Zhang^[8]的研究结果与本研究相似,其证实 G-Rg5 治疗 1 个月后膝骨性关节炎的软细胞凋亡比例降至 7%,且软骨基质蛋白多糖、胶原蛋白和 II 型胶原蛋白的水平显著升高,炎症因子如软骨基质金属蛋白酶(Matrix Metalloproteinase, MMP-13)降低到 45%,白介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤

因子- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)、一氧化氮 (NO) 和诱导型 NO 合成酶 iNOS 降低了 67%, 54%, 32% 和 49%。同时, 15 mg/kg 剂量的 G-Rg5 相较其他浓度的抗炎、抗软骨细胞凋亡的作用更优, 提示 G-Rg5 可以防止软骨降解并抑制软骨细胞凋亡, 可用于骨关节炎的治疗。同样 Aravinthan 等^[12] 发现 G-Rb1 能显著改善关节炎炎症症状, 且呈剂量依赖性对去卵巢关节炎大鼠的膝关节软骨产生保护作用, 主要通过抑制 IL-6、IL-1 β 、MCP-1/CCL-2、环氧合酶-2 (COX-2) 和前列腺素 E₂ (PGE₂) 等炎症介质, 降低了 MMP-13 等炎症因子表达水平, 阻止了软骨基质糖胺聚糖的降解。

人参皂苷 Rg5 是在人参蒸煮过程中合成的, 通过人参皂苷 Rb1 的去糖基化与人参皂苷 Rg3 第 20 位碳的脱水得到^[13]。已有较多研究证实 G-Rg5 可促进肿瘤细胞的凋亡和自噬, 与激活 MAPK 通路、抑制 PI3K/Akt 信号通路从而下调 Bcl-2 等表达有关^[14-15], 同时可抑制促炎症细胞因子如 TNF- α 、IL-1 β 产生抗炎作用^[16-17]。许多研究已发现膝骨性关节炎软骨细胞的凋亡与上述提及的癌基因和炎症因子过表达相关^[18], 目前研究发现人参皂苷-Rb1 和 Rg1 具有抗凋亡、抗炎、神经保护等多种药理作用^[19-20], 也是目前在膝骨性关节炎方面被研究较多的人参成分^[12,20]。尚缺乏 G-Rg5 在膝骨性关节炎方面的系统研究^[13], 可能与 Rg5 在水中溶解度低、生物利用度差和非靶向给药等因素的限制有关^[7], 有待更多的研究进一步探讨其治疗作用。

3.3 关节力学异常会导致膝骨性关节炎发生

膝骨性关节炎的主要病理机制是膝关节软骨的退行性改变, 继发性膝骨性关节炎最常由于关节内的力学异常 (如创伤后原因) 或疾病 (如类风湿关节炎) 等因素通过破坏关节软骨引起。本研究采用手术方式破坏大鼠膝关节的动态稳定性, 使关节受力不均, 导致关节内的磨损来诱发关节软骨的改变, 形成膝骨性关节炎。该方法具有造模时间短, 效果好, 经济且能较好模拟出关节炎的病理变化过程等优点^[21]。本研究对模型组进行关节腔注射生理盐水, 组织形态学观察显示出明显骨性关节炎样改变, 即软骨表面粗糙甚至局部缺损, 基质组织染色不均, 软骨细胞簇集, 软骨层次不清晰, 且镜下显示软骨细胞显著减少、厚度变薄、基质 GAG 含量明显减少, 证实关节力学异常会导致膝骨性关节炎发生, 且发现关节接触区的损伤最严重。

3.4 不足与展望

本研究不足之处为仅关注两种浓度的人参皂苷对膝骨性关节炎软骨细胞和基质的影响作用, 其次是本研究主要通过免疫组化技术观察软骨厚度、软骨细胞、软骨基质糖胺聚糖的含量, 来评估和反映膝骨性关节

炎模型大鼠的软骨损伤程度, 而未讨论膝骨性关节炎软骨破坏中软骨细胞凋亡之信号通路 (如 NO、Notch 和 FAS 途径) 及炎症因子 (如 MMP-13、IL-1 β 、TNF- α 等) 内在机制^[22-23]。在未来工作中将观察多种浓度的 G-Rg5, 并参考叶酸修饰人参皂苷结合牛血清白蛋白的纳米颗粒技术^[11] 或水溶性载体的人参皂基植入关节腔内^[24] 以提高生物利用度, 探讨信号通路下炎症指标和 Bcl-2、P53 等相关癌基因表达的内在机制。

由于骨性关节炎有着年轻化的发病趋势, 肥胖、久坐、慢性疾病等引起关节力学异常、软骨炎症等因素变化, 导致骨细胞肥大、凋亡、软骨基质破坏等病理表现, 加速膝骨性关节炎的发生。本研究证实关节力学异常会导致膝骨性关节炎发生, 且关节接触区的软骨损伤最严重, G-Rg5 对膝骨性关节炎具有保护作用, 可以改善或延缓关节软骨损伤, 且呈剂量依赖性抑制膝骨性关节炎模型大鼠的关节软骨细胞凋亡和基质糖胺聚糖减少, 为临床治疗骨性关节炎提供了一定的证据支持。

参考文献

- [1] ROOS E M, ARDEN N K. Strategies for the prevention of knee osteoarthritis[J]. Nat Rev Rheumatol, 2016, 12 (2): 92-101.
- [2] KWON S W, HAN S B, PARK I H, et al. Liquid chromatographic determination of less polar ginsenosides in processed ginseng[J]. J Chromatogr A, 2001, 921(2): 335-339.
- [3] KIM S K, PARK J H. Trends in ginseng research in 2010[J]. J Ginseng Res, 2011, 35(4): 389-398.
- [4] KIM S N, HA Y W, SHIN H, et al. Simultaneous quantification of 14 ginsenosides in Panax ginseng C. A. Meyer (Korean red ginseng) by HPLC-ELSD and its application to quality control[J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 45(1): 164-170.
- [5] KIM T W, JOH E H, KIM B, et al. Ginsenoside Rg5 ameliorates lung inflammation in mice by inhibiting the binding of LPS to toll-like receptor-4 on macrophages[J]. Int Immunopharmacol, 2012, 12(1): 110-116.
- [6] LIU M Y, LIU F, LI Y J, et al. Ginsenoside Rg5 inhibits human osteosarcoma cell proliferation and induces cell apoptosis through PI3K/Akt/mTOR C1-related LC3 autophagy pathway[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021: 5040326.
- [7] DONG Y, FU R, YANG J, et al. Folic acid-modified ginsenoside Rg5-loaded bovine serum albumin nanoparticles for targeted cancer therapy in vitro and in vivo[J]. Int J Nanomedicine, 2019, 14: 6971-6988.
- [8] ZHANG P. Ginsenoside-Rg5 treatment inhibits apoptosis of chondrocytes and degradation of cartilage matrix in a rat model of osteoarthritis[J]. Oncol Rep, 2017, 37(3): 1497-1502.

203.

- [11] 移平, 谭明生, 吕国华, 等. 督脉瘀阻型寰枢椎脱位手术联合中药治疗的临床研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2017, 25(1): 14-18.
- [12] 林一峰, 牛维. 脊柱退行性疾病从督脉论治探讨[J]. 安徽中医学院学报, 2002(5): 4-6.
- [13] 王姣姣, 周峻, 王延雷, 等. “椎管减压, 疏通督脉”论治脊髓损伤的学术思想探析[J]. 中医正骨, 2020, 32(10): 67-70.
- [14] 杨磊, 陈锋, 闫乾, 等. 腰椎管狭窄症中西医结合治疗方法选择[J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(10): 130-134.
- [15] 侯胜稳. 中医骨伤手法配合独活寄生汤加减治疗腰椎间

盘突出症临床观察[J]. 实用中医药杂志, 2018, 34(9): 1038-1039.

- [16] 王慧心, 吴福有. 补阳还五汤联合针刺对脑梗死恢复期患者神经功能及血流变指标水平的影响[J]. 中国民康医学, 2022, 34(1): 110-112.
- [17] 齐英娜, 谭明生, 王延雷, 等. 补阳还五汤对大鼠急性上颈脊髓损伤后血小板活化因子的影响[J]. 中国骨伤, 2018, 31(2): 170-174.
- [18] 聂颖, 范瑜洁, 王泉治, 等. 补阳还五汤联合骨髓间充质干细胞移植对脊髓损伤气虚血瘀证的疗效[J]. 神经损伤与功能重建, 2021, 16(12): 714-718.

(收稿日期: 2022-03-15)

(上接第 17 页)

- [9] ROGART J N, BARRACH H J, CHICHESTER C O. Articular collagen degradation in the Hulth-Telhag model of osteoarthritis[J]. Osteoarthritis Cartilage, 1999, 7(6): 539-547.
- [10] 李文雄, 孙赫, 沈玮, 等. SD 大鼠骨关节炎造模方法的筛选及优化探究[J]. 畜牧与兽医, 2014, 46(10): 70-73.
- [11] 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.
- [12] ARAVINTHAN A, HOSSAIN M A, KIM B, et al. Ginsenoside Rb1 inhibits monoiodoacetate-induced osteoarthritis in postmenopausal rats through prevention of cartilage degradation[J]. J Ginseng Res, 2021, 45(2): 287-294.
- [13] LIU M Y, LIU F, GAO Y L, et al. Pharmacological activities of ginsenoside Rg5 (Review) [J]. Exp Ther Med, 2021, 22(2): 840.
- [14] MEDZHITOV R. Origin and physiological roles of inflammation[J]. Nature, 2008, 454(7203): 428-435.
- [15] LIU Y, FAN D. The preparation of Ginsenoside Rg5, its antitumor activity against breast cancer cells and its targeting of PI3K[J]. Nutrients, 2020, 12(1): 246.
- [16] LIU Y, FAN D. Ginsenoside Rg5 induces G2/M phase arrest, apoptosis and autophagy via regulating ROS-mediated MAPK pathways against human gastric cancer[J]. Biochem Pharmacol, 2019, 168: 285-304.
- [17] CUI Y, SU Y, DENG L, et al. Ginsenoside-Rg5 inhibits retinoblastoma proliferation and induces apoptosis through

suppressing BCL2 expression[J]. Chemotherapy, 2018, 63(5): 293-300.

- [18] 左显锋, 范建楠, 莫愁, 等. 骨性关节炎关节软骨细胞凋亡的研究进展[J]. 山东医药, 2022, 62(4): 108-111.
- [19] HASHIMOTO R, YU J, KOIZUMI H, et al. Ginsenoside Rb1 prevents MPP(+)-induced apoptosis in PC12 cells by stimulating estrogen receptors with consequent activation of ERK1/2, Akt and inhibition of SAPK/JNK, p38 MAPK[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012: 693717.
- [20] RADAD K, GILLE G, MOLDZIO R, et al. Ginsenosides Rb1 and Rg1 effects on mesencephalic dopaminergic cells stressed with glutamate[J]. Brain Res, 2004, 1021(1): 41-53.
- [21] 李威, 杨风云. 鼠类膝骨性关节炎模型建立的研究进展[J]. 江西中医药, 2020, 51(2): 77-80.
- [22] INADA M, WANG Y, BYRNE M H, et al. Critical roles for collagenase-3 (MMP13) in development of growth plate cartilage and in endochondral ossification[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(49): 17192-17197.
- [23] KNÄUPER V, BAILEY L, WORLEY J R, et al. Cellular activation of proMMP-13 by MT1-MMP depends on the C-terminal domain of MMP-13[J]. FEBS Lett, 2002, 532(1/2): 127-130.
- [24] HOSSAIN M A, ALAM M J, KIM B, et al. Ginsenoside-Rb1 prevents bone cartilage destruction through down-regulation of p-Akt, p-P38, and p-P65 signaling in rabbit[J]. Phyto-medicine, 2022, 100: 154039.

(收稿日期: 2022-05-05)