

蛇床子素对膝骨关节炎软骨细胞凋亡的影响

李业成¹ 张巍^{1△}

[摘要] 目的:初步探讨蛇床子素(Osthole, OST)对人膝骨关节炎软骨细胞的保护作用及机制。方法:获取膝骨关节炎软骨组织,并进行软骨细胞传代培养,应用蛇床子素处理软骨细胞并分为不同浓度蛇床子素处理组(0, 10, 50, 100, 150 $\mu\text{mol/L}$)和空白对照组。用CCK-8法检测软骨细胞增殖,用流式细胞术检测软骨细胞凋亡,qRT-PCR和Western Blot法检测miR-9、COL2A1、MMP13、Caspase-3及Protogenin (PRTG)的表达情况,体外分析蛇床子素对人膝骨关节炎软骨细胞的影响。结果:与空白对照组及不同浓度蛇床子素处理组比较,100 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理组软骨细胞凋亡明显减少,差异有统计学意义($P < 0.05$),且100 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理组软骨细胞中miR-9和COL2A1表达均上调,MMP13、PRTG及Caspase-3表达下调,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论:蛇床子素可保护关节软骨,可能通过上调miR-9抑制PRTG和Caspase-3阻断软骨细胞凋亡及基质降解,从而缓解骨关节炎进展。

[关键词] 蛇床子素;膝骨关节炎;软骨细胞

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2025)07-0012-06

DOI: 10. 20085/j. cnki. issn1005-0205. 250703

The Effect of Osthole on Apoptosis of Chondrocytes in Knee Osteoarthritis

LI Yecheng¹ ZHANG Wei^{1△}

¹ Chongming Hospital Affiliated to Shanghai University of Medicine & Health Sciences, Shanghai 202150, China.

Abstract Objective: To investigate the protective effects and mechanisms of Osthole (OST) on human knee osteoarthritis chondrocytes. **Methods:** Cartilage tissue from knee osteoarthritis was obtained and chondrocytes were subcultured. Chondrocytes were treated with OST and divided into groups treated with different concentrations of OST (0, 10, 50, 100, 150 $\mu\text{mol/L}$) and blank control group. Using CCK-8 method to detect chondrocyte proliferation, flow cytometry to detect chondrocyte apoptosis, qRT PCR and Western Blot to detect the expression of miR-9, COL2A1, MMP13, Caspase-3 and protogenin (PRTG), and analyzing the effect of OST on human knee osteoarthritis chondrocytes in vitro. **Results:** Compared with the blank control group and different concentrations of OST treatment groups, the apoptosis of chondrocytes in the 100 $\mu\text{mol/L}$ OST treatment group was significantly reduced ($P < 0.05$), and the expression of miR-9 and COL2A1 in chondrocytes in the 100 $\mu\text{mol/L}$ OST treatment group was upregulated. The downregulation of MMP13, PRTG, and Caspase-3 expression showed statistically significant differences ($P < 0.05$). **Conclusion:** OST protects articular cartilage, potentially by upregulating miR-9 to suppress PRTG and Caspase-3, thereby blocking chondrocyte apoptosis and matrix degradation, which alleviates the progression of osteoarthritis.

Keywords: Osthole; knee osteoarthritis; chondrocytes

膝骨关节炎(Knee Osteoarthritis, KOA)早期以

膝关节周围弹响、疼痛,晚期以膝关节内外翻畸形和严重屈伸旋转功能障碍为特征^[1-2]。蛇床子素(Osthole, OST)已被证明具有抗氧化、止痛功能,可调控软骨细胞的增殖、凋亡,可缓解软骨退变,对膝骨关节炎的治疗具有潜在作用^[3]。蛇床子素可通过上调miR-9水平促进神经干细胞分化,起到保护神经系统的作用^[4]。

基金项目:上海健康医学院附属崇明医院院级课题
(CMYY2023-05)

¹ 上海健康医学院附属崇明医院(上海,202150)

[△]通信作者 E-mail:477530342@qq.com

在膝骨关节炎患者中,miR-9 表达明显降低,miR-9 可通过靶向定位 Protogenin(PRTG)基因调节软骨细胞的形态和细胞活性^[5],PRTG 过表达可激活 p53/Caspase-3 信号通路,促进小鼠软骨细胞凋亡^[6],但蛇床子素如何发挥调控作用的机制尚需进一步研究,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

获取膝骨关节炎患者膝关节置换术中废弃的软骨组织,所取患者软骨标本均得到患者及家属同意,并通过了医院的伦理审查。COL2A1、MMP13、miR-9 及 PRTG 检测试剂盒(苏州昂飞生物科技有限公司);蛇床子素(徐州医科大学药学院天然药物化学研究室)。

1.2 方法

1.2.1 软骨细胞提取及培养 收集本院骨科经临床诊断为膝骨关节炎患者关节置换术后废弃的无菌软骨标本,将获取的无菌软骨组织置入无血清 DMEM 培养基中,冰盒低温转移入超净台,置于无菌培养皿中,去除软骨周围的多余组织,用无血清 DMEM 培养液掩盖标本,将软骨组织剪切成 1~3 mm 左右的碎块,分别用 0.25%胰蛋白酶和 0.2% II 型胶原酶在 37 °C 恒温摇床中消化 30 min 和 8 h,软骨细胞大部分分离后过滤,收集滤液 1 000 r/min 离心 5 min,弃去上清,用 PBS 吹打浸洗 2 遍,加入含 10%血清 DMEM/F-12 培养液制成细胞悬液,并移入培养瓶内,置于 37 °C 恒温、5%CO₂ 浓度、饱和湿度培养箱内培养软骨细胞。定期在显微镜下观察照相,记录软骨细胞生长形态和贴壁情况,用第 3 代软骨细胞进行实验。

1.2.2 软骨细胞鉴定 形态学观察:通过倒置相差显微镜观察原代培养软骨细胞的形态学特征和生长增殖情况,并照相记录。甲苯胺蓝染色法:取第 3 代软骨细胞,于 6 孔板中的玻片上进行细胞爬片,待细胞贴壁后,去除培养液,取出玻片,用 PBS 清洗 2 遍;4%多聚甲醛固定 1 h,用 1%甲苯胺蓝染色 30 min,染色后用双蒸水洗去多余染液;无水乙醇脱水,中性树胶封片,于倒置相差显微镜下观察并照相记录。

1.2.3 细胞分组处理 取第 3 代软骨细胞进行实验,分为空白对照组和不同浓度蛇床子素处理组(0, 10, 50, 100, 150 μmol/L),用含 10%血清的 DMEM/F-12 培养液,置于 37 °C 恒温、5%CO₂ 浓度、饱和湿度培养箱内进行培养。

1.2.4 CCK-8 法检测细胞增殖 在 96 孔培养板中每孔接种 100 μL 浓度为 5×10⁴个/mL 的软骨细胞悬液,37 °C 培养箱孵育 4~6 h,空白对照组和不同浓度蛇床子素(0, 10, 50, 100, 150 μmol/L)组各设 6 个复孔,观

察细胞贴壁后加入不同浓度的蛇床子素处理软骨细胞,孵育 24 h 后,每孔中加入 10 μL 的细胞计数试剂(CCK-8),酶标仪上 450 nm 波长处检测光密度(OD)值估计细胞活力。

1.2.5 流式细胞仪检测细胞凋亡情况 收集处理后的第 3 代软骨细胞,并根据制造商的说明,用碘化丙啶(PI)和异硫氰酸荧光素偶联的 Annexin V 进行染色,用流式细胞仪检测细胞凋亡,并绘制散点图统计软骨细胞凋亡率。

1.2.6 qRT-PCR 检测 将对数生长期的各组细胞,采用 Trizol 法提取总 RNA,采用 PrimeScript RT reagent Kit(Perfect Real Time)试剂盒将总 RNA 逆转录为 cDNA。U6 作为 COL2A1、MMP13、miR-9、Caspase-3 及 PRTG 的内参,用 ABI7500 实时定量 PCR 仪进行 RT-PCR 实验,用 Opticon Monitor3 软件分析聚合酶链式反应(PCR)结果。引物检测结果见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

目的基因	引物序列
U6	5'- GCTTCGGCAGCACATATACT-3'
	5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGT-3'
miR-9	5'-GGAGTCCGTGTGTCTGTGTG-3'
	5'-GCTTTATGACGGCTCTGTGG-3'
COL2A1	5'-GACGCCACGCTCAGTC-3'
	5'-TCTCCGCTCTTCCACTCTG-3'
MMP13	5'-TGGGCCTTCTGGTCTTC-3'
	5'-GTTGTAGCCTTTGGAGATG-3'
PRTG	5'-CGA AGCAAAGCCAGGAAGTC-3'
	5'-GCT TGTTGTGAATCCCTGAGCG-3'
Caspase-3	5'-AAGCGAATCAATGGACTCTGG-3'
	5'-CTGTACCAGACCGAGATGTC-3'

1.2.7 Western Blot 法检测 在对数生长期的软骨细胞中加蛋白裂解液提取总蛋白,采用 Bradford 法(考马斯亮蓝法)进行蛋白定量。总蛋白(50 μg)进行 12%SDS-PAGE 电泳后,将蛋白质转移至 PVDF 膜,与抗 COL2A1、MMP13、miR-9、PRTG、Caspase-3 及 β-actin 单克隆抗体,4 °C 下孵育过夜。用 PBST 洗膜 3 次,每次 5 min,加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗室温下孵育 2 h,洗膜,配制化学发光液,以 1:1 比例将鲁米诺试剂(Luminol Reagent)和过氧化氢溶液(Peroxide Solution)(Millipore,美国)混匀,进行显色扫描拍照及分析,以目标条带与内参照条带的灰度值之比作为蛋白质的相对表达水平。

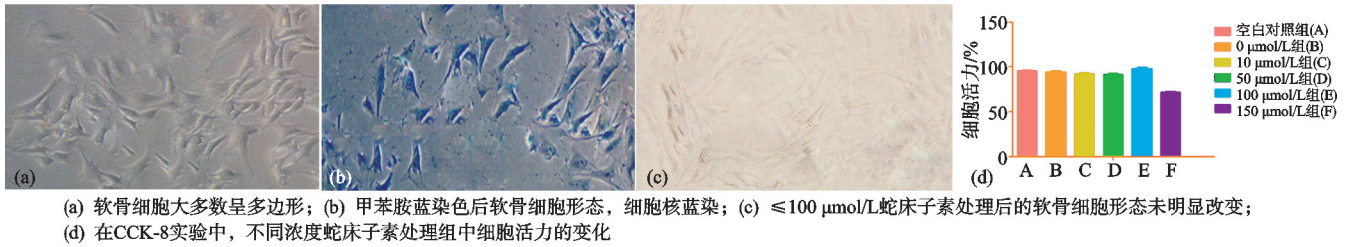
1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计学分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,组间比较采用单因素方差分析,当方差不齐时采用布朗-福赛斯和韦尔奇方差分析, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 软骨细胞形态学观察

软骨细胞大多数呈多边形(见图 1a), 甲苯胺蓝染色后软骨细胞核为蓝色(见图 1b)。0, 10, 50, 100 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理后的软骨细胞形态没有改



(a) 软骨细胞大多数呈多边形; (b) 甲苯胺蓝染色后软骨细胞形态, 细胞核蓝染; (c) $\leq 100 \mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理后的软骨细胞形态未明显改变; (d) 在CCK-8实验中, 不同浓度蛇床子素处理组中细胞活力的变化

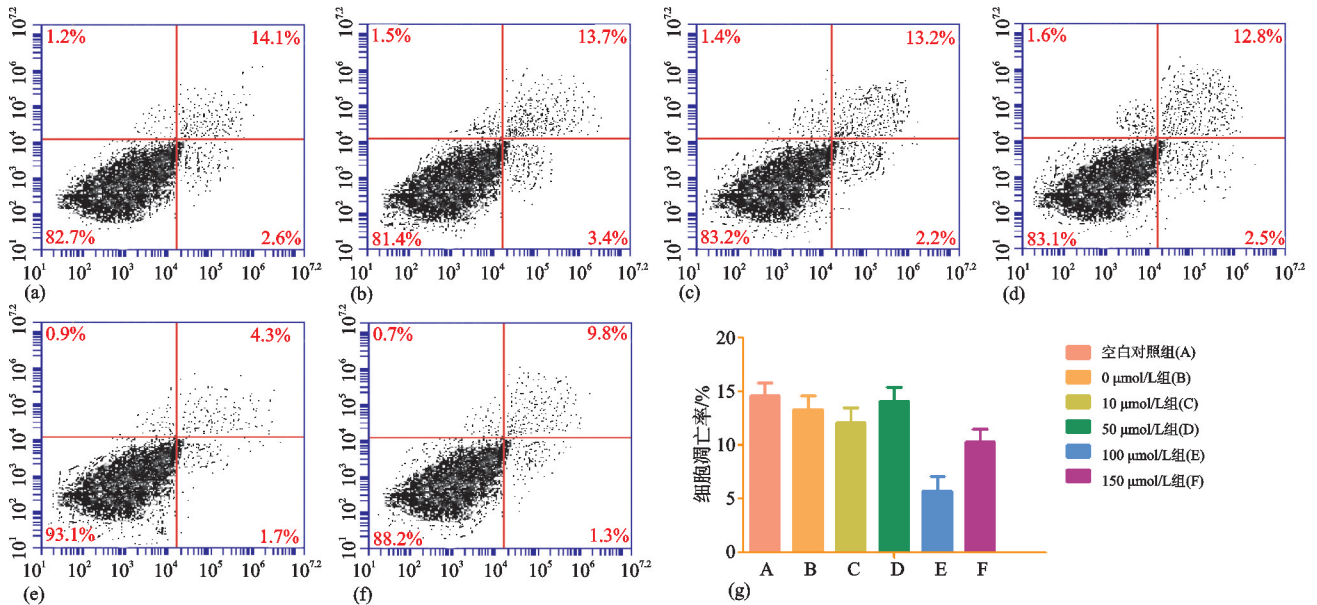
图 1 软骨细胞形态学观察($\times 40$)

2.2 软骨细胞凋亡情况

不同组别软骨细胞凋亡情况如图 2a~f 所示。采用 Annexin V/PI 检测各组软骨细胞的凋亡趋势(如图 2a 所示), 空白对照组中软骨细胞凋亡率为 $14.60\% \pm 1.21\%$, 而用 0, 10, 50 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理后的软骨细胞对凋亡率($13.25\% \pm 1.32\%$)无影响。然而, 随着 100 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素的加入, 软骨细胞凋亡率下降到 $5.67\% \pm 1.43\%$, 与对照组及 0, 10,

变(见图 1c)。在 CCK-8 实验中, 当蛇床子素浓度超过 $100 \mu\text{mol/L}$ 时, 细胞活力显著下降, 而蛇床子素浓度 $\leq 100 \mu\text{mol/L}$ 对软骨细胞无毒(见图 1d)。浓度为 $100 \mu\text{mol/L}$ 的蛇床子素对软骨细胞的保护作用最强(见图 1d)。

50 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明蛇床子素对软骨细胞凋亡具有抑制作用。而随着蛇床子素浓度的增高其抑制软骨细胞的凋亡作用随之降低, 150 $\mu\text{mol/L}$ 组的蛇床子素处理后的软骨细胞凋亡率为 $10.31\% \pm 1.16\%$, 其与 100 $\mu\text{mol/L}$ 组蛇床子素比较软骨细胞凋亡率差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 的蛇床子素抑制软骨细胞凋亡的作用最强。



(a) 空白对照组; (b) 0 $\mu\text{mol/L}$ 组; (c) 10 $\mu\text{mol/L}$ 组; (d) 50 $\mu\text{mol/L}$ 组; (e) 100 $\mu\text{mol/L}$ 组; (f) 150 $\mu\text{mol/L}$ 组; (g) 各组之间软骨细胞凋亡率比较

图 2 不同组别软骨细胞凋亡情况

2.3 qRT-PCR 检测 COL2A1、MMP13、miR-9、Caspase-3 及 PRTG 的 mRNA 表达情况

用 qRT-PCR 检测 COL2A1、MMP13、miR-9、Caspase-3 及 PRTG 的 mRNA 表达情况, 结果显示空白对照组中 miR-9 的表达下调, 0, 10, 50 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理后的软骨细胞中 miR-9 表达未受影响。0, 10, 50, 150 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理后的软骨细胞中 COL2A1、MMP13、miR-9、Caspase-3 及 PRTG 表达未受影响。

100 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素组处理的软骨细胞中 miR-9 和 COL2A1 表达均上调, MMP13、PRTG 及 Caspase-3 的表达下调。100 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理组与对照组、0 $\mu\text{mol/L}$ 组、10 $\mu\text{mol/L}$ 组、50 $\mu\text{mol/L}$ 组及 150 $\mu\text{mol/L}$ 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 结果表明蛇床子素可通过上调 miR-9 抑制 PRTG 表达调节 p53/Caspase-3 通路, 抑制软骨细胞凋亡和软骨基质降解, 其中以蛇床子素 100 $\mu\text{mol/L}$ 组的作用最显著(见图 3)。

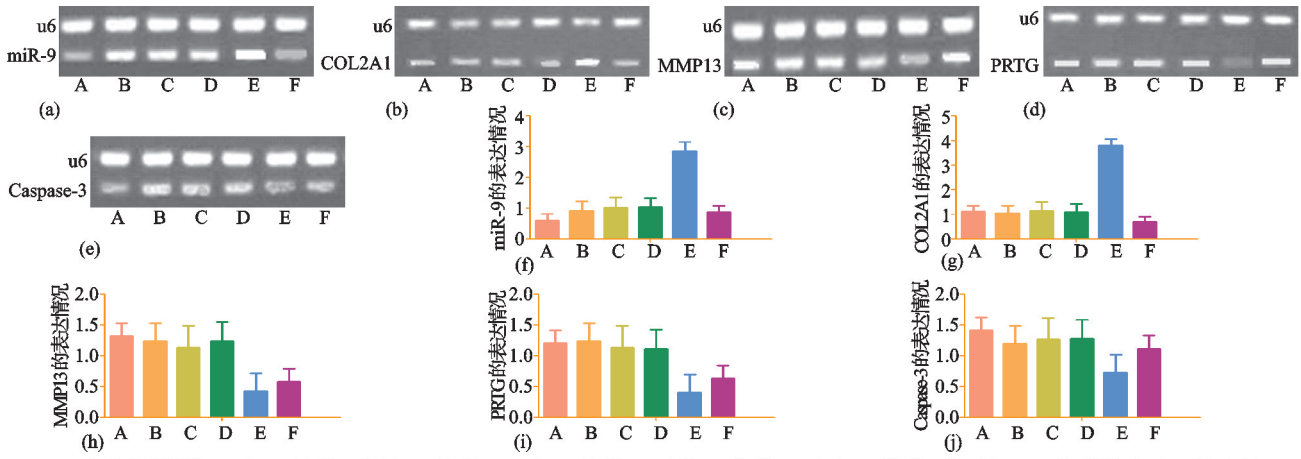
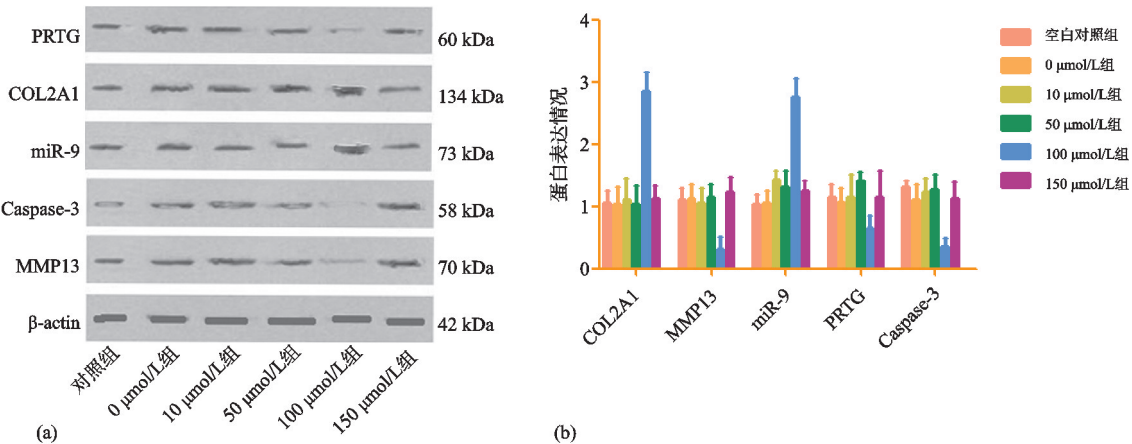


图3 qRT-PCR检测COL2A1、MMP13、miR-9、PRTG及Caspase-3的mRNA表达

2.4 Western-Blot法检测miR-9、COL2A1、MMP13、PRTG及Caspase-3的蛋白表达情况

图4为用Western Blot法检测miR-9、COL2A1、MMP13、PRTG及Caspase-3的蛋白表达情况,结果显示:与对照组比较,0,10,50,150 μmol/L蛇床子素处理后的软骨细胞中miR-9、COL2A1、MMP13、

PRTG及Caspase-3的蛋白表达未受影响;100 μmol/L蛇床子素处理的软骨细胞中miR-9和COL2A1蛋白表达上调,MMP13、PRTG及Caspase-3蛋白表达下调,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),结果表明100 μmol/L蛇床子素可抑制软骨细胞凋亡和软骨基质降解。



(a) Western-Blot法检测miR-9、COL2A1、MMP13、PRTG及Caspase-3的蛋白表达情况;(b) 各组miR-9、COL2A1、MMP13、PRTG及Caspase-3的蛋白表达情况

图4 Western-Blot法检测miR-9、COL2A1、MMP13、PRTG及Caspase-3的蛋白表达

3 讨论

膝骨关节炎的发病机制复杂,目前药物的治疗效果并不理想。中医药治疗膝骨关节炎的成本低,效果好,但中药中有效提取物的治疗效果仍值得深入研究^[7]。蛇床子素是独活的主要活性成分,可抑制软骨细胞凋亡,但其作用机制尚不明确。笔者的前期研究^[8]显示,小剂量的独活挥发油关节腔内注射可显著减轻兔膝骨关节炎,抑制软骨细胞的破坏,对软骨组织具有明显保护作用。为进一步探讨独活治疗膝骨关节炎的具体机制,本实验将独活主要药理活性成分蛇床子素进行提取后,研究其对膝骨关节炎软骨细胞退变的影响,并采用不同浓度蛇床子素进行干预,观察软骨细胞增殖、凋亡和软骨标志物生成及降解情况,分析

miR-9及其靶基因PRTG表达调节p53/Caspase-3通路相关因子表达水平,验证miR-9与PRTG的靶向调节关系,分析蛇床子素对膝骨关节炎的作用机制,为临床治疗膝骨关节炎提供新的靶点及药物。本研究中体外软骨细胞培养实验表明,蛇床子素可通过上调miR-9表达靶向调节PRTG基因,抑制p53/Caspase-3通路相关因子表达,进而抑制软骨细胞凋亡和软骨基质降解。

MicroRNAs(miRNAs或miRs)能够调节多种生理功能和疾病过程的基因表达,miRNAs通过控制靶基因,在调节关节炎的主要危险因素的作用中发挥了关键作用。调控基因的功能几乎涉及细胞过程的所有方面,包括增殖、分化、衰老和凋亡。软骨细胞是细胞

外基质合成和周转的主要因素,在很大程度上影响关节炎的组织功能。既往研究证实 miR-9、miR-27、miR-140 和 miR-146 等 miRNAs 在骨关节炎患者中异常表达,在骨关节炎的发生发展中发挥显著作用。Li 等^[9]研究认为 miR-103 在关节炎患者和模型大鼠的软骨组织中显著下调 PI3K/AKT 通路,降低 SPHK1 活性来促进关节炎的进展。在体外 IL-1 β 诱导的关节炎模型中,miR-146a 的表达明显升高,抑制 TGF- β 信号通路,促进关节炎的发病机制^[10]。miR-9 参与了多种肿瘤的进展,可以靶向作用于 PAK4,抑制结肠癌细胞的凋亡,还可靶向作用于 SOCS5 调控宫颈癌细胞的血管生成^[11-12]。Chen 等^[6]研究认为 miR-9 可以抑制软骨细胞凋亡,促进软骨细胞增殖。张彦秋等^[13]研究认为 miR-9 过表达可能通过靶向下调 PRTG 的表达抑制膝骨关节炎软骨细胞的凋亡,这与本研究结果相似。然而有研究^[14]表明 miR-9 在关节炎患者的软骨组织中高表达,并逆转 MEG3 对软骨细胞的保护作用,提示 miR-9 在关节炎进展过程中是一个损伤因子。膝骨关节炎发展过程中伴随着软骨基质的降解,其中 MMP13 被认为是最重要的基质金属蛋白酶之一^[15]。在本研究中蛇床子素显著降低了 MMP13 的蛋白表达水平,同时上调了 COL2A1 的表达,因此可以推测蛇床子素可以保护软骨基质免于降解。

流式细胞术检测不同浓度蛇床子素处理后的软骨细胞凋亡率情况显示,浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理组与空白对照组及 0, 10, 50 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理组比较差异有统计学意义,说明蛇床子素对软骨细胞凋亡有抑制作用。而随着蛇床子素浓度的增高其抑制软骨细胞的凋亡作用随之降低,150 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理后的软骨细胞凋亡率为 10.31% \pm 1.16%,其与 100 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理组比较软骨细胞凋亡率差异有统计学意义,且浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素抑制软骨细胞凋亡的作用最强。qRT-PCR 结果显示空白对照组中 miR-9 的表达下调,0, 10, 50 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理后的软骨细胞中 miR-9 表达未受影响,100 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理组中骨关节炎软骨细胞中 miR-9 的表达显著上调,150 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理组中骨关节炎软骨细胞中 miR-9 的表达降低。100 $\mu\text{mol/L}$ 蛇床子素处理组与对照组、0 $\mu\text{mol/L}$ 组、10 $\mu\text{mol/L}$ 组、50 $\mu\text{mol/L}$ 组及 150 $\mu\text{mol/L}$ 组比较,差异有统计学意义,表明蛇床子素可通过上调 miR-9 的表达来抑制软骨细胞的凋亡。这些研究与本研究的结论一致,充分证明了蛇床子素对软骨细胞凋亡的抑制作用。

为了阐明 miR-9 对下游分子的影响,本研究还分组比较了 COL2A1、MMP13、PRTG 及 Caspase-3 的

表达。既往研究表明 miR-9 可调节 MMP-13 的分泌,而 miR-9 能够通过抑制 IL-6 的活性来抑制肿瘤的发生^[16]。在膝骨关节炎患者中,miR-9 表达明显降低,miR-9 可通过靶向 PRTG 基因调节软骨细胞的形态和细胞活性^[5],PRTG 过表达可激活 p53/Caspase-3 信号通路,促进小鼠软骨细胞凋亡^[6]。本研究中蛇床子素处理膝骨关节炎软骨细胞后显著增加了软骨细胞中 miR-9 和 COL2A1 的表达,同时 MMP13、PRTG 及 Caspase-3 的表达下调,进一步验证了蛇床子素对 miR-9 抑制 PRTG 表达、调节 p53/Caspase-3 通路的调控机制及其对膝骨关节炎发生发展的治疗作用。由此,笔者推测蛇床子素可能通过上调 miR-9 抑制 PRTG 表达,调节 p53/Caspase-3 通路,调控膝骨关节炎发生发展。另外,通过不同浓度蛇床子素处理体外软骨细胞,测试得出蛇床子素的最大有效和安全剂量,结果显示两者的范围一致,因此今后临床治疗应严格控制其有效及安全剂量。

综上所述,本研究进一步证实了蛇床子素可能通过上调 miR-9 抑制 PRTG 表达、调节 p53/Caspase-3 通路调控膝骨关节炎发生发展,抑制膝骨关节炎软骨细胞的凋亡及软骨基质的降解,从而保护关节软骨。但是,本研究也有一些局限性,本研究中软骨细胞实验仅来自同一供体,应该尝试来自不同供体的软骨细胞。此外,建立敲除特定基因(如 miR-9)的动物模型也是下一步的研究重点,笔者后期将通过动物实验进一步验证这一结论。

参考文献

- [1] HALL M, VAN DER ESCH M, HINMAN R S, et al. How does hip osteoarthritis differ from knee osteoarthritis? [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2022, 30(1): 32-41.
- [2] LIN Z, MIAO J, ZHANG T, et al. d-Mannose suppresses osteoarthritis development in vivo and delays IL-1 β -induced degeneration in vitro by enhancing autophagy activated via the AMPK pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 135: 111199.
- [3] CHERN C M, ZHOU H, WANG Y H, et al. Osthole ameliorates cartilage degradation by downregulation of NF- κ B and HIF-2 α pathways in an osteoarthritis murine model [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 867: 172799.
- [4] XIA S, TIAN H, FAN L, et al. Peripheral blood miR-181-5p serves as a marker for screening patients with osteoarthritis by targeting TNF- α [J]. *Clin Lab*, 2017, 63(11): 1819-1825.
- [5] LI S H, GAO P, WANG L T, et al. Osthole stimulated neural stem cells differentiation into neurons in an Alzheimer's disease cell model via upregulation of microRNA-9 and rescued the functional impairment of hippocampal neurons in APP/PS1 transgenic mice [J].

- Front Neurosci, 2017, 11: 340.
- [6] CHEN H, YANG J, TAN Z. Upregulation of microRNA-9-5p inhibits apoptosis of chondrocytes through downregulating TNC in mice with osteoarthritis following tibial plateau fracture[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(12): 23326-23336.
- [7] ZHANG G, ZHANG H, YOU W, et al. Therapeutic effect of resveratrol in the treatment of osteoarthritis via the MALAT1/miR-9/NF- κ B signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2020, 19(3): 2343-2352.
- [8] 乙军, 周业庭, 潘武, 等. 独活挥发油关节腔注射对实验性兔膝骨性关节炎的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2014, 2(20): 1670-1672.
- [9] LI F, YAO J, HAO Q, et al. miRNA-103 promotes chondrocyte apoptosis by down-regulation of Sphingosine kinase-1 and ameliorates PI3K/AKT pathway in osteoarthritis[J]. Biosci Rep, 2019, 39(10): BSR20191255.
- [10] LI J, HUANG J, DAI L, et al. miR-146a, an IL-1 β responsive miRNA, induces vascular endothelial growth factor and chondrocyte apoptosis by targeting Smad4[J]. Arthritis Res Ther, 2012, 14(2): R75.
- [11] WANG M, GAO Q, CHEN Y, et al. PAK4, a target of miR-9-5p, promotes cell proliferation and inhibits apoptosis in colorectal cancer[J]. Cell Mol Biol Lett, 2019, 24: 58.
- [12] WEI Y Q, JIAO X L, ZHANG S Y, et al. MiR-9-5p could promote angiogenesis and radiosensitivity in cervical cancer by targeting SOCS5[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(17): 7314-7326.
- [13] 张彦秋, 张永涛. miR-9 对骨性关节炎细胞凋亡的影响及与 protogenin 的靶向关系[J]. 广东医学, 2014, 35(21): 3313-3316.
- [14] HUANG Y, CHEN D, YAN Z, et al. LncRNA MEG3 protects chondrocytes from IL-1 β -induced inflammation via regulating miR-9-5p/KLF4 axis[J]. Front Physiol, 2021, 12: 617654.
- [15] ZHOU D, WEI Y, SHENG S, et al. MMP13-targeted siRNA-loaded micelles for diagnosis and treatment of posttraumatic osteoarthritis[J]. Bioact Mater, 2024, 37(2): 378-392.
- [16] VINCENTI M P, BRINCKERHOFF C E. Early response genes induced in chondrocytes stimulated with the inflammatory cytokine interleukin-1 β [J]. Arthritis Res, 2001, 3(6): 381-388.

(收稿日期: 2024-11-15)

(上接第 11 页)

- [11] LEE S H, KAO C C, LIANG H W, et al. Validity of the osteoarthritis research society international (OARSI) recommended performance-based tests of physical function in individuals with symptomatic Kellgren and Lawrence grade 0-2 knee osteoarthritis[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2022, 23(1): 1040.
- [12] AARON R K, RACINE J, DYKE J P. Contribution of circulatory disturbances in subchondral bone to the pathophysiology of osteoarthritis[J]. Curr Rheumatol Rep, 2017, 19(8): 49.
- [13] 刘兆丰, 王大斌, 李军. 藤黄健骨片联合常规西药对老年膝关节骨性关节炎(肝肾不足、筋脉瘀滞证)的作用[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(6): 1424-1427.
- [14] JIANG X, WANG Q, WANG C, et al. The association between genetic polymorphisms of matrix metalloproteinases and knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis[J]. Int J Rheum Dis, 2024, 27(3): e15123.
- [15] WANG Y. Novel drug discovery approaches for MMP-13 inhibitors in the treatment of osteoarthritis[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2024, 114: 130009.
- [16] 陈鹏宇, 叶超, 赵久丽, 等. 膝关节关节炎不同证候患者关节液白介素-1 β 浓度特点研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2024, 32(9): 26-30.
- [17] ZHAO Q H, LIN L P, GUO Y X, et al. Matrix metalloproteinase-13, NF- κ B p65 and interleukin-1 β are associated with the severity of knee osteoarthritis[J]. Exp Ther Med, 2020, 19(6): 3620-3626.
- [18] CHERIFI C, MONTEAGUDO S, LORIES R J. Promising targets for therapy of osteoarthritis: a review on the Wnt and TGF- β signalling pathways[J]. Ther Adv Musculoskelet Dis, 2021, 13: 1759720X211006959.
- [19] SHRESTHA R, TAMRAKAR S, KOJU P, et al. Investigating the efficacy and safety of diacerein in the management of knee osteoarthritis with reference to its conventional management[J]. J Nepal Health Res Counc, 2023, 20(4): 942-946.

(收稿日期: 2025-01-13)