

· 综 述 ·

牛膝总皂苷治疗膝骨关节炎的药理研究进展

黄竞杰, 杨俊兴, 陈浩雄[广州中医药大学深圳医院(福田), 广东 深圳 518000]

摘要: 膝骨关节炎是关节组织降解和修复失衡, 最终导致软骨退化、软骨下骨硬化、滑膜炎症的过程。现代医学的常用药物如止痛药、非甾体抗炎药、硫酸氨基葡萄糖和糖皮质激素类等只能暂时缓解膝骨关节炎的疼痛, 但无法阻止关节炎的进展。牛膝是中医治疗膝骨关节炎的常见药物, 牛膝总皂苷是其主要活性成分。近年研究发现牛膝总皂苷具有抗炎, 抑制软骨基质降解等作用。该文对牛膝总皂苷治疗膝骨关节炎的药理研究成果作一综述, 为临床治疗膝骨关节炎提供参考。

关键词: 膝骨关节炎; 牛膝总皂苷; 作用机制; 研究进展; 抗炎; 软骨退化

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2021)04-0592-04

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2021.04.022

Progress in Pharmacological Research on Total Saponins of *Achyranthes bidentata* in the Treatment of Knee Osteoarthritis

HUANG Jingjie, YANG Junxing, CHEN Haoxiong[Shenzhen Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine (Futian), Shenzhen 518000 Guangdong, China]

Abstract: Knee osteoarthritis (KOA) is an active dynamic alteration arising from an imbalance between the repair and destruction of joint tissues, which results in cartilage degradation, subchondral sclerosis and synovial inflammation. Pharmacological agents include analgesics, non-steroidal anti-inflammatory drugs, glucosamine sulfate and corticosteroids, which are widely used in modern medicine to relieve symptoms but rarely delay structural progression of osteoarthritis. Dry roots of *Achyranthes bidentata* are commonly used in traditional Chinese medicine to treat KOA, and the total saponins of *Achyranthes bidentata* are its main active ingredients. Traditional Chinese medicine researchers have found that total saponins of *Achyranthes bidentata* have the effects of anti-inflammation and suppressing cartilage degradation. To provide reference for clinical application, the current article reviewed the pharmacological progress of total saponins of *Achyranthes bidentata* in the treatment of KOA.

Keywords: Knee osteoarthritis; total saponins of *Achyranthes bidentata*; active mechanism; research progress; anti-inflammation; cartilage degradation

随着老龄人口与肥胖人口的增加, 骨关节炎的发病率越来越高, 全球约有 2.5 亿人患有骨关节炎, 其中 85% 为膝骨关节炎(KOA)^[1]。骨关节炎是在机械因素和细胞因子、代谢作用的影响下, 软骨细胞、胞外基质等关节结构降解和修复失衡, 最终软骨退化、软骨下骨增生硬化、滑膜轻度炎症的过程^[1-3]。现代医学治疗 KOA 的传统药物(止痛药、非甾体抗

炎药、硫酸氨基葡萄糖和糖皮质激素等)具有短暂缓解关节疼痛和抑制炎症的作用, 但无法真正有效地控制关节炎进展, 因为这些药物无法阻止关节软骨退行性病变和软骨下骨组织重构等病理过程, 而这些变化正是骨关节炎发生的主要原因^[4]。骨关节炎属于中医学“骨痹”范畴。牛膝有补肝肾, 强筋骨的功效, 它是中医治疗骨痹最常见的药物。牛膝是苋

收稿日期: 2020-08-27

作者简介: 黄竞杰, 男, 硕士研究生, 研究方向: 关节与运动损伤。Email: 920579431@qq.com。通信作者: 陈浩雄, 男, 副主任中医师, 研究方向: 中西医结合治疗膝骨关节炎。Email: 425525106@qq.com。

基金项目: 广东省中医药局科研项目(2019129)。

科牛膝属植物的干燥根, 含有皂苷类、甾酮类、多糖类、黄酮、有机酸、生物碱等化合物, 在治疗骨关节炎中有重要作用^[5-6], 其中牛膝总皂苷是牛膝的主要活性成分, 具有抗炎、抗氧化、抗凋亡等作用^[6], 现将牛膝总皂苷治疗 KOA 的药理研究成果综述如下。

1 抑制促炎因子

软骨基质代谢失衡是 KOA 最重要的特征, 膝关节软骨由软骨基质和软骨细胞构成, 软骨细胞分泌基质和细胞因子。而软骨细胞和关节组织的其他细胞分泌的促炎因子能促进软骨基质降解, 是打破关节组织代谢平衡的“罪魁祸首”^[1]。促炎因子有促进软骨细胞凋亡、软骨和软骨下骨重构, 增加患者疼痛感等作用, 其中白细胞介素 1 β (IL-1 β)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)是最重要的促炎因子^[3, 7-8]。骨关节炎患者的关节液、软骨、滑膜和软骨下骨的 IL-1 β 和 TNF- α 含量增加。IL-1 β 和 TNF- α 相互促进表达, 还能促进其他炎症因子如 IL-6、IL-8 和趋化因子配体 5(CCL5)的表达, 进而促进一系列能降解软骨基质的蛋白酶表达^[7]。多个研究表明牛膝总皂苷能抑制膝关节组织的促炎因子的表达。高坤等^[9]对患 KOA 的新西兰兔灌胃给予牛膝总皂苷, 结果其滑膜液中的促炎因子(IL-1 α 、IL-1 β 、IL-10、TNF- α)和一系列趋化因子(CCL3、IL-8、CXCL9)表达明显降低。孙雪莲等^[10]研究发现牛膝总皂苷灌胃给药能降低 KOA 兔膝关节液 IL-1 β 水平, 在光镜和透射电镜下观察到牛膝总皂苷能够保护软骨细胞。余阅等^[11]发现牛膝总皂苷灌胃后, KOA 兔的关节黏连度有所改善, 关节液中 TNF- α 、IL-1 β 水平降低。那莎等^[12]研究表明, 牛膝总皂苷可以剂量依赖性降低痛风性关节炎大鼠关节渗出液中 IL-1 β 、IL-18、IL-6 水平以及痛风炎症体 NALP3、凋亡执行蛋白 Caspase-1 的含量。IL-6、IL-8 也是 KOA 病程发展中发挥重要作用的细胞因子, 效应和 TNF- α 、IL-1 β 类似^[3, 7]。牛膝总皂苷治疗 KOA 的机制之一可能是通过抑制促炎因子表达, 从而抑制软骨基质降解、软骨细胞凋亡、关节结构重构等 KOA 的病理生理过程。

2 抑制软骨细胞凋亡及促进软骨细胞增殖

软骨细胞是软骨中唯一的细胞, 能产生大量的 II 型胶原、蛋白聚糖等胞外基质, 这些蛋白构成软骨基质。严重骨关节炎患者软骨基质中细胞减少, 出现许多空软骨陷窝, 即软骨细胞死亡^[13]。死亡软骨细

胞的碎片会释放炎症因子, 促进软骨降解并引起更多软骨细胞死亡, 从而形成恶性循环^[3]。治疗 KOA 的关键是保护软骨细胞。谢获^[14]发现牛膝总皂苷能降低 KOA 兔的关节液中一氧化氮(NO)水平, 抑制磷脂酰肌醇-3 激酶和蛋白激酶 B(PI3K/AKT)信号通路中的 AKT 第 308 位的苏氨酸磷酸化, 并抑制软骨细胞凋亡。同时该研究团队发现^[15]含有牛膝总皂苷的当归注射液也可抑制软骨细胞凋亡, 机制可能也与 PI3K/AKT 信号通路有关。马笃军等^[16]研究发现牛膝总皂苷灌胃能增强 KOA 兔软骨细胞活力和增殖水平, 并降低缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)、血管内皮因子(VEGF)的 mRNA 水平, 上调 II 型胶原 mRNA 水平, 而 HIF-1 α 和 VEGF 对软骨发育、重建发挥重要的调控作用, HIF-1 α 可能是 KOA 病程发展的启动因素之一, 通过 HIF-1 α , 牛膝总皂苷可能增强软骨细胞对缺氧的耐受能力。根据软骨营养来自关节液的理论, 研究者将 KOA 模型兔的软骨细胞进行原代培养, 并在培养基中加入含牛膝总皂苷的关节液, 可使细胞活力增加而且早期和晚期细胞凋亡率下降, II 型胶原表达增加^[17]。在含牛膝总皂苷血清的培养基中进行原代培养的兔膝软骨细胞活力增加而凋亡抑制, 并且转化生长因子 β 1(TGF- β 1)mRNA 含量增加, 凋亡执行蛋白 Caspase-3 表达降低^[18]。张小鸿^[19]发现牛膝总皂苷能减少 IL-1 β 引起的软骨细胞凋亡, 机制可能与 NF- κ B 信号通路相关。岳宗进等^[20]发现牛膝总皂苷能诱导骨髓间充质干细胞向髓核样细胞分化, 但牛膝总皂苷能否通过诱导间充质干细胞向软骨细胞分化还有待探究。上述多个研究表明牛膝总皂苷可提高软骨细胞活力, 甚至诱导干细胞分化, 并有多种信号通路参与其中。

3 抑制基质降解

软骨基质代谢失衡是骨关节炎最重要的特征, 软骨基质主要由 II 型胶原和蛋白聚糖构成。基质金属蛋白酶(MMPs)能降解 II 型胶原蛋白等多种细胞外基质成分, 是多种炎症因子促进软骨降解的共同通路^[3, 7-8]。KOA 发展过程中的重要炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、IL-8 等均能促进 MMPs、血小板反应蛋白解整合素金属肽酶(ADAMTS)和活性氧(ROS)的表达, 而这些物质又能促进软骨基质降解^[3, 7]。实验表明牛膝总皂苷能缓解软骨退变, 提高软骨细胞 II 型胶原蛋白 mRNA 及蛋白的表达^[10, 17]。KOA 实验兔经牛膝总皂苷灌胃后, 其关节液中的炎症因子与

MMP-1、MMP-2、MMP-3 的表达明显降低^[9,11]。孙雪莲等^[10]还发现牛膝总皂苷能提高 TGF- β 1 的表达,而 TGF- β 1 能促进 II 型胶原合成并抑制 MMPs 表达,从而减少基质的降解,TGF- β 1 还能促进软骨细胞增殖。还有研究^[19]表明,牛膝总皂苷还能降低 KOA 大鼠血清 IL-1 β 和 NO 水平,抑制软骨蛋白聚糖降解,并使经 IL-1 β 处理的软骨细胞 MMP-3、MMP-9 和环氧化酶 2(COX-2)表达降低。NO 能使软骨细胞凋亡,并导致软骨下骨功能紊乱和软骨基质降解^[21-22]。

4 减轻滑膜炎

作为 KOA 的特征病理改变之一,滑膜炎是 KOA 的前兆,甚至可作为诱发 KOA 的独立因素^[23-24]。在影像学可检测软骨退变之前,滑膜组织已经开始增厚、炎细胞浸润、大量炎性因子分泌^[25]。滑膜炎能促进软骨基质的降解,并增加患者的疼痛感,使膝关节功能受损^[24-25]。滑膜液主要由滑膜组织产生,滑膜液不仅润滑膝关节还是软骨细胞的营养来源。滑膜液中的细胞因子能调节软骨细胞增殖分化、代谢等生理活动,从而调控软骨基质的代谢平衡。对滑膜进行抗炎治疗,能抑制部分患者膝关节组织结构退变^[26]。牛膝总皂苷能有效缓解膝关节滑膜炎,降低滑膜组织和滑膜液的炎性因子,减轻滑膜炎性细胞浸润,抑制血管增生,缓解滑膜组织充血水肿^[9,11-12]。肖伟等^[27]一项随机临床试验表明,牛膝醇提物(主要含有皂苷与多糖类活性成分)可有效减轻 KOA 患者负重痛,降低滑膜炎评分及减少关节积液。骨关节炎患者的关节组织中 COX-2 含量较高,其合成的前列腺素 E2 能促进软骨基质降解、软骨细胞凋亡、炎性因子产生和血管增生,甚至激活破骨细胞,从而破坏软骨和骨质^[2,28]。牛膝总皂苷可以抑制由 IL-1 β 诱导的软骨细胞 COX-2 表达,从而保护关节组织^[19]。

5 讨论

KOA 的重要特征是软骨细胞死亡、软骨基质代谢失衡。软骨细胞产生软骨基质并分泌各种细胞因子。治疗 KOA 的关键是保护软骨细胞。以 IL-1 β 和 TNF- α 为主的促炎因子能促进软骨细胞凋亡、软骨基质降解、软骨下骨重构以及增强患者痛感。上述研究通过细胞、动物实验已证明牛膝总皂苷能抑制 IL-1 β 和 TNF- α 等促炎因子,同时还具有抑制软骨细胞凋亡,提高其活力,降低 ROS 水平、抑制软骨基质降解,减轻关节滑膜炎等作用。这些作用可

能与 PI3K/AKT、NF- κ B、Caspase 等信号通路有关。

现代医学治疗 KOA 的经典药物无法阻止膝关节不可逆转的重构。目前已有一些旨在阻止软骨降解或者关节组织重构的治疗方法进入美国 FDA 临床第 2 或第 3 期试验,其中包括中和 IL-1 的抗体^[1]。多项研究^[9-12]表明牛膝总皂苷具有降低 IL-1 和 TNF- α 水平的作用。但目前已有的研究主要停留在牛膝总皂苷对各炎性指标的作用,仍不能确定牛膝总皂苷抗 KOA 的作用是其直接抑制 IL-1 与 TNF- α 信号而引起的效应,还是牛膝总皂苷能直接作用于 MMPs、Caspase 或其他通路中的信号分子。未来的研究应着重于寻找和牛膝总皂苷直接作用的靶分子以及总皂苷中主要的效应成分,确定牛膝总皂苷是否具有基因转录、翻译层面的调控作用,或者牛膝总皂苷能直接与蛋白质相互作用引起下游信号的改变。

其次,建议开展牛膝总皂苷抑制 KOA 软骨下骨重构研究。软骨下骨重构表现为血管增生,软骨下骨变厚、囊变,骨赘形成^[8]。VEGF 可促进软骨下骨的血管增生,VEGF 抗体能有效缓解 KOA^[29]。基于已有研究^[16],牛膝总皂苷能降低 KOA 模型兔 VEGF 的 mRNA 水平,表明牛膝总皂苷可能可抑制软骨下骨的重构,但目前未见针对牛膝总皂苷对软骨下骨重构的文献报道。

第三,可深入研究牛膝总皂苷对抗炎因子的作用。KOA 发展的过程中,TNF- α 和 IL-1 β 等炎性因子发挥极其重要的作用,几乎能促进所有 KOA 的病理生理过程,如炎细胞浸润、软骨组织结构改变、软骨基质降解、软骨细胞凋亡等。抗炎因子 IL-4、IL-10、IL-13 在 KOA 的发展中同样重要,但作用相反,这些抗炎因子可抑制基质降解,抑制软骨细胞凋亡^[7]。牛膝总皂苷能显著抑制促炎因子,但目前几乎没有关于牛膝总皂苷对抗炎因子影响的研究。已有研究表明牛膝多糖能促进使 T 细胞表达抗炎因子 IL-4^[30]。所以,亟待开展牛膝总皂苷对 IL-10、IL-4、IL-13 等炎性因子抗炎作用的研究。

参考文献:

- [1] HUNTER D J, BIERMA-ZEINSTRAS S. Osteoarthritis[J]. Lancet, 2019, 393: 1745-1759.
- [2] 陈浩雄,徐宁达,彭力平,等. 中药治疗膝骨关节炎软骨修复实验研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(25): 2843-2845.
- [3] LIU-BRYAN R, TERKELTAUB R. Emerging regulators of the inflammatory process in osteoarthritis[J]. Nat Rev Rheumatol, 2015,

- 11(1): 35-44.
- [4] LI C, ZHENG Z, HA P, et al. Neural EGFL like 1 as a potential pro-chondrogenic, anti-inflammatory dual-functional disease-modifying osteoarthritis drug[J]. *Biomaterials*, 2020, 226: 119541.
- [5] 沈舒, 王琼, 李友宾, 等. 牛膝的化学成分和药理作用研究进展[J]. *海峡药学*, 2011, 23(11): 1-6.
- [6] 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.
- [7] WOJDASIEWICZ P, PONIATOWSKI L A, SZUKIEWICZ D, et al. The role of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the pathogenesis of osteoarthritis[J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014: 561459.
- [8] GLYN-JONES S, PALMER A J R, AGRICOLA R, et al. Osteoarthritis[J]. *Lancet*, 2015, 386: 376-387.
- [9] 高坤, 张勇, 陈大宇, 等. 牛膝总皂苷干预兔膝关节炎滑膜液来源细胞因子的表达[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(33): 5317-5321.
- [10] 孙雪莲, 刘渊, 周红海, 等. 牛膝总皂苷对兔膝关节炎软骨组织形态变化及关节液中IL-1 β 、TGF- β 1含量的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2016, 27(3): 321-326.
- [11] 余闾, 彭力平, 马笃军, 等. 牛膝总皂苷对实验兔膝关节炎滑膜组织的影响[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2017, 25(6): 1-5.
- [12] 那莎, 段陈方圆, 王璐, 等. 牛膝总皂苷对大鼠急性痛风性关节炎的防治作用及机制研究[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2017, 22(9): 966-971.
- [13] HWANG H S, KIM H A. Chondrocyte apoptosis in the pathogenesis of osteoarthritis[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(11): 26035-26054.
- [14] 谢获. 牛膝总皂甙对兔早期骨关节炎及PI3K/AKT通路的影响[D]. 贵州: 遵义医学院, 2011.
- [15] 杨安群, 谢获. 当归-牛膝对兔骨关节炎PI3K/AKT通路的影响[J]. *放射免疫学杂志*, 2012, 25(5): 526-529.
- [16] 马笃军, 彭力平, 余闾, 等. 牛膝总皂苷对骨关节炎模型兔软骨修复及低氧诱导因子1信号通路的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(27): 4332-4337.
- [17] 马笃军, 彭力平, 曹亚飞, 等. 牛膝总皂苷含药关节液对骨关节炎体外软骨细胞增殖及凋亡的实验研究[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2019, 27(3): 1-5.
- [18] 刘渊, 孙雪莲, 周红海, 等. 牛膝总皂苷含药血清对兔膝软骨细胞增殖与凋亡的实验研究[J]. *时珍国医国药*, 2015, 26(10): 2382-2385.
- [19] 张小鸿. 牛膝总皂苷保护软骨细胞作用及其机制研究[D]. 福建: 华侨大学, 2014.
- [20] 岳宗进, 刘汝银, 于露, 等. 牛膝总皂苷调控Namp1/NAD/Sirt1轴诱导骨髓间充质干细胞向髓核样细胞分化[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(9): 1313-1318.
- [21] GOLDRING M B, OTERO M, TSUCHIMOTOCHI K, et al. Defining the roles of inflammatory and anabolic cytokines in cartilage metabolism[J]. *Ann Rheum Dis*, 2008, 67(Suppl 3): iii75-iii82.
- [22] LEPETOS P, PAPAVALASSIOU A G. ROS/oxidative stress signaling in osteoarthritis[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1862(4): 576-591.
- [23] ATUKORALA I, KWONG C K, GUERMAZI A, et al. Synovitis in knee osteoarthritis: A precursor of disease[J]. *Ann Rheum Dis*, 2016, 75(2): 390-395.
- [24] SCANZELLO C R, GOLDRING S R. The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis[J]. *Bone*, 2012, 51(2): 249-257.
- [25] ROEMER F W, GUERMAZI A, FELSON D T, et al. Presence of MRI-detected joint effusion and synovitis increases the risk of cartilage loss in knees without osteoarthritis at 30-month follow-up: the MOST study[J]. *Ann Rheum Dis*, 2011, 70(10): 1804-1809.
- [26] MATHIESSEN A, CONAGHAN P G. Synovitis in osteoarthritis: current understanding with therapeutic implications[J]. *Arthritis Res Ther*, 2017, 19(1): 18.
- [27] 肖伟, 彭力平, 林栋栋, 等. 牛膝醇提物透入疗法对膝骨性关节炎的疗效观察[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2015, 23(8): 37-40.
- [28] MARTEL-PELLETIER J, PELLETIER J P, FAHMI H, et al. Cyclooxygenase-2 and prostaglandins in articular tissues[J]. *Semin Arthritis Rheum*, 2003, 33(3): 155-167.
- [29] BARRANCO C. Osteoarthritis: Animal data show VEGF blocker inhibits post-traumatic OA[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2014, 10(11): 638.
- [30] 季敬璋, 彭颖, 吕建新, 等. 牛膝多糖体外诱导人T细胞表达IFN- γ 和IL-4蛋白的机制探讨[J]. *中国免疫学杂志*, 2003, 19(9): 611-613.

(编辑: 梁进权)