

淫羊藿苷促进关节软骨损伤修复作用机制研究进展

刘琪^{1,2}, 李林臻^{1,2}, 张君涛^{1,2*}

1. 天津中医药大学第一附属医院, 天津 300381

2. 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津 300381

摘要: 淫羊藿苷是补肾类中药淫羊藿的主要活性成分, 属异戊烯基黄酮醇类化合物, 具有免疫调节、抗炎、抗氧化应激、抗肿瘤、抗衰老和抗骨质疏松等多种药理活性, 对神经、免疫、肿瘤、内分泌、心脑血管和肌肉骨骼系统等疾病均具有良好的功效, 尤其对骨骼系统疾病具有多通道、多靶点的活性作用, 在关节软骨损伤性疾病中具有潜在应用优势。淫羊藿苷可通过促进软骨细胞增殖分化及抑制过度凋亡、减少炎症因子释放、抑制软骨下骨结构重塑、促进关节软骨细胞外基质合成、促进骨髓间充质干细胞迁移和成软骨分化等多种作用机制来促进关节软骨损伤修复。对淫羊藿苷在治疗关节软骨损伤性疾病中发挥不同修复作用及其机制进行综述, 以期为深入研究和相关药物研发提供参考依据。

关键词: 关节软骨损伤; 淫羊藿苷; 软骨修复; 作用机制; 成软骨分化

中图分类号: R286.7 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2024) 06-1393-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.06.024

Research progress on active mechanism of icariin in promoting repair of articular cartilage damage

LIU Qi^{1,2}, LI Linzhen^{1,2}, ZHANG Juntao^{1,2}

1. The First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300381, China

2. National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, Tianjin 300381, China

Abstract: Icariin is the main active monomer of the kidney tonic Chinese medicine *Epimedii Folium*, belonging to isopentenylflavonol compounds, with multiple pharmacological activities such as immunomodulation, anti-inflammation, anti-oxidative stress, anti-tumor and aging, anti-osteoporosis and other multiple pharmacological activities, which is effective in neurological, immunological, oncological, endocrinological, cardio-cerebral, cerebral, vascular and musculoskeletal system disorders, especially in the skeletal system diseases, with a multichannel and multi-targeted active effect, in particular, it has multi-channel and multi-target active effects on skeletal system diseases, and has potential application advantages in articular cartilage damage diseases. Icariin can promote the repair of articular cartilage damage by promoting chondrocyte proliferation and differentiation, inhibiting excessive apoptosis, decreasing the release of inflammatory factors, inhibiting the remodeling of subchondral bone structure, promoting the synthesis of extracellular matrix in articular cartilage, and promoting the migration and chondrogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells, and many other mechanisms of action. Now, we review the different repairing effects played by icariin in the treatment of articular cartilage damage diseases and its mechanism, in order to provide reference basis for in-depth research and related drug development.

Key words: articular cartilage damage; icariin; cartilage repair; mechanism of action; chondrogenic differentiation

关节软骨是一种表面光滑且富有弹性的致密结缔组织, 在关节活动时起到承担压力负荷、减少相邻两骨摩擦和缓冲震荡的作用^[1]。正常软骨组织由胶原纤维构成基本框架, 软骨细胞散在分布其

间, 在关节负重区软骨厚度通常仅为1~3 mm, 因此极易发生损伤^[2]。软骨损伤好发于运动员和老年人群, 其发病与高能量创伤、长期运动不当、年龄及肥胖等因素相关, 临床主要表现为关节疼痛、肿胀、弹

收稿日期: 2024-01-17

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82074470; 51573137)

第一作者: 刘琪(1997—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中医药促进软骨损伤修复再生。E-mail: liuqi19975267@126.com

*通信作者: 张君涛, 男, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为中医药促进软骨损伤修复再生。E-mail: zhangjuntaoliyan@sina.com

响、绞索及不同程度的活动能力下降,直接影响患者的日常出行和生活质量^[3-4]。有研究调查显示,软骨损伤在膝关节镜手术中占比达63%^[5],而在经常进行旋转运动的职业运动员中髌关节软骨损伤的患病率高达86%^[6]。目前临床治疗和修复软骨损伤的方法主要有关节腔内注射皮质类固醇、透明质酸、葡萄糖胺和软骨素等药物,虽可以有效改善关节腔内损伤微环境,调节软骨细胞生长,但较短的药物半衰期、较短的关节内停留时间及不可控的药物释放等因素影响了其长期临床疗效^[7-8]。迄今为止,关节软骨损伤仍然是骨科及运动医学领域中研究的重点课题和重大挑战。中药在修复关节软骨损伤中具有独特优势,可通过作用于多种蛋白质、受体及信号通路发挥多重治疗作用。

淫羊藿苷是补肾类中药淫羊藿的主要活性成分,属异戊烯基黄酮醇苷类化合物,具有多重生物学作用,其含量已是评价淫羊藿药材质量的重要指标^[9]。现代药理学研究发现,淫羊藿苷具有调节免疫、改善骨代谢、促进神经突触生长、抗炎、抗肿瘤、抗氧化应激以及抗衰老等作用,对心脑血管、免疫、骨骼、神经和内分泌系统均有积极而明显的治疗作用,尤其在骨骼系统疾病中促进软骨损伤修复表现出巨大应用优势^[10]。淫羊藿苷可通过促进软骨细胞增殖分化及抑制过度凋亡、降低炎症因子释放、抑制软骨下骨结构重塑、促进软骨细胞外基质合成、促进骨髓间充质干细胞迁移和成软骨分化等多种途径来增强细胞活性及改善关节周围微环境,以此促进软骨损伤修复。基于此,本文结合相关文献研究,就淫羊藿苷促进关节软骨损伤修复的不同作用机制及研究现状进行综述,以期对软骨损伤治疗药物的开发提供参考。

1 促进软骨细胞增殖并抑制过度凋亡

软骨损伤修复与软骨细胞的增殖和凋亡密切相关,淫羊藿苷可通过河马(Hippo)信号通路、Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路、磷脂酰肌醇-3-激酶/丝苏氨酸蛋白激酶/雷帕霉素靶蛋白(PI3K/Akt/mTOR)信号通路等促进软骨细胞增殖并抑制其凋亡,从而发挥修复受损软骨的作用。

1.1 Hippo 信号通路

Hippo 通路及其下游效应因子对调控细胞和组织生长非常重要, Yes 相关蛋白(YAP)是 Hippo 通路下游的转录因子, Hippo 通路未被激活时, YAP 定位于细胞核, 与转录增强相关结构域蛋白(TEADs)相互作用, 启动结缔组织生长因子(CTGF)及富半胱

氨酸蛋白61(Cyr61)等基因的表达, 促进细胞生长和增殖^[11]。鲍远等^[12]进行体外细胞学实验, 用不同浓度(0、0.000 1、0.001 0、0.010 0、0.100 0、1.000 0、10.000 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)淫羊藿苷干预大鼠软骨细胞, 发现不同浓度淫羊藿苷均能促进软骨细胞增殖, 以浓度为1.000 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时细胞增殖活性最强, 此时YAP及其靶基因锚蛋白重复结构域1(Ankrd1)和CTGF的表达量最多, 但随着YAP基因的沉默, 使得淫羊藿苷的促增殖作用受到抑制, 表明淫羊藿苷能够通过促进YAP及其靶基因的表达而提高软骨细胞增殖能力, 从而有助于软骨损伤的再生修复。Wang等^[13]研究得出同样的结论, 发现1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 淫羊藿苷促增殖作用最显著, 能够明显提高小鼠ATDC5细胞的增殖活性, 增加糖胺聚糖(GAG)分泌, 同时淫羊藿苷通过激活远上游元件结合蛋白1, 调节缺氧诱导因子-1 α 和缺氧诱导因子-2 α 信号传导, 以促进软骨细胞增殖代谢和细胞外基质合成。Xiang等^[14]用不同浓度(0.001~10.000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)淫羊藿苷干预SD大鼠软骨细胞, 48 h后发现淫羊藿苷以浓度相关的方式促进软骨细胞增殖和II型胶原表达; 此外在动物实验中, 将24只大鼠分为对照组、跑步机组、淫羊藿苷组、淫羊藿苷+跑步机组, 全层软骨缺损造模1周后ig给予淫羊藿苷25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 治疗, 6周后取材膝关节组织, 进行免疫组织化学评估和镜下形态学观察, 结果发现淫羊藿苷能够减轻模型大鼠软骨退化, 提高蛋白聚糖含量, 修复软骨缺损, 从组织学上改善软骨状况。

1.2 Wnt/ β -catenin 信号通路

Wnt/ β -catenin 信号通路在细胞增殖调控中具有重要意义, 淫羊藿苷通过提高Wnt/ β -catenin 信号通路中Wnt2、 β -catenin、细胞周期素D1(CCND1)等基因相对表达水平, 促进软骨细胞增殖并抑制其凋亡^[15]。王鹏珍等^[16]将关节软骨细胞分为对照组和淫羊藿苷组, 对照组常规正常培养, 淫羊藿苷组采用10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的淫羊藿苷进行培养, 14 d后发现淫羊藿苷组软骨细胞数量明显多于对照组, 可见大量酸性黏多糖聚集于软骨陷窝, 同时细胞周期蛋白D1(Cyclin D1)、Cyclin E及 β -catenin的基因表达也较对照组显著增加。刘杰等^[17]通过体外细胞学研究发现淫羊藿苷通过Wnt/ β -catenin 信号通路促进软骨细胞增殖, 降低肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平, 抑制软骨细胞凋亡, 同时体内干预兔膝关节软骨损伤模型, 发现淫羊藿苷能够显著降低软骨中Wnt、 β -catenin的mRNA和蛋白表达, 提高糖原合成

酶激酶3 β 基因表达,并降低国际骨关节炎研究学会(OARSI)评分。

1.3 PI3K/Akt/mTOR 信号通路

PI3K/Akt/mTOR 信号通路是一种重要的细胞信号传导途径,参与调节多种生物学过程,包括细胞增殖、凋亡、代谢和迁移等。Tang 等^[18]采用手术建立大鼠膝关节软骨损伤模型,ip 不同剂量(20、40、80 mg·kg⁻¹)淫羊藿苷溶液,每日1次,连续4周,阳性对照为3-甲基腺嘌呤(30 mg·kg⁻¹),结果发现不同剂量淫羊藿苷均能有效抑制软骨细胞凋亡,上调自噬基因表达,通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路传导,增加 PI3K、蛋白激酶 B(*p-Akt1*)、雷帕霉素靶蛋白(*p-mTOR*)等基因水平,显著改善关节软骨退变和纤维层缺失,降低 OARSI 评分。Chen 等^[19]用不同浓度(0、5、10、20、40、80、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)淫羊藿苷处理软骨细胞,然后用白细胞介素 1 β (IL-1 β)刺激以模拟骨关节炎,发现淫羊藿苷可以逆转 IL-1 β 诱导的 II 型胶原降解,并上调自噬相关基因 UNC-51 样激酶 1(*ULK1*)、苜蓿素 1(*Beclin-1*)和 *LC3-II/I* 的表达,此外淫羊藿苷还降低 PI3K、Akt 和 mTOR 磷酸化,增加 ULK1 的产生,结果说明淫羊藿苷可以通过调节 PI3K/Akt/mTOR/ULK1 信号通路来诱导自噬,减少软骨细胞凋亡,从而对关节软骨起到保护作用。

2 抑制软骨下骨结构重塑

软骨下骨结构重塑变化导致骨代谢出现异常,打破成骨细胞和破骨细胞之间的骨代谢平衡,使得成骨细胞和破骨细胞的功能表型发生改变,分泌更多的细胞因子和炎症介质,干扰软骨细胞生长代谢^[20]。软骨与软骨下骨之间的物质信息交流是软骨下成骨细胞对关节软骨细胞具有调控作用的基础。研究发现,成骨细胞能够通过丝裂原活化蛋白激酶/缺氧诱导因子 1(MAPK/HIF-1)信号通路上调软骨细胞糖酵解,诱导关节软骨疾病发生^[21]。Jiang 等^[22]从雌激素缺乏大鼠模型中提取关节软骨细胞和软骨下成骨细胞并进行非接触共培养,结果发现成骨细胞下调软骨细胞中的合成代谢指标并促进分解代谢指标,此外成骨细胞可分泌富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白(Sparc),通过丝裂原活化蛋白激酶/叉头盒 O 蛋白(MAPK/Foxo3a)信号通路发挥抑制软骨细胞作用。Zhang 等^[23]通过体外细胞学研究发现 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的淫羊藿苷可通过膜雌激素受体介导非核效应对体外成骨细胞增殖产生类似雌激素作用,并且这种作用与丝裂原活化蛋白激酶介导的快速非基因组 ER 信号通路有关。杨冰璇等^[24]采用

不同浓度(0、0.01、0.10、1.00、10.00、100.00 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)淫羊藿苷干预小鼠前成骨 MC3T3-E1 细胞,发现淫羊藿苷可通过抑制核因子 κB 信号通路和增强自噬促进小鼠前成骨 MC3T3-E1 细胞成骨分化,促进成骨细胞活性和增殖,增加矿化结节、碱性磷酸酶及 Runx2 蛋白表达,增强骨与软骨形成能力,其中以浓度为 10.00 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 效果最显著。因此,淫羊藿苷通过提高软骨下成骨细胞活性和纠正其功能表型表达抑制了软骨下骨结构重塑,减少软骨损伤发生和对软骨细胞代谢的干扰,创造了治疗软骨损伤的根基环境,有助于软骨损伤的再生修复。

3 减少炎症因子释放

关节软骨出现损伤后,关节腔内微环境亦随之发生变化,继发性产生多种炎症因子,若关节腔内同时合并有滑膜增厚、游离体等问题,关节内微环境会进一步恶化,刺激关节滑膜组织产生更多的炎症因子,形成不断加强的软骨损伤-滑膜炎-软骨损伤正反馈环路^[25]。淫羊藿苷可通过作用于多个细胞信号通路抑制关节内炎症细胞因子释放来促进关节软骨损伤修复,一方面淫羊藿苷通过调节 NF- κB 、MAPK 和 Akt 信号通路降低炎症细胞因子产生和胰岛素抵抗,抑制软骨细胞凋亡,从而降低炎症反应^[26]。另一方面淫羊藿苷通过抑制 c-Jun 氨基末端激酶/p38 丝裂原活化蛋白激酶(JNK/p38 MAPK)信号通路降低软骨细胞中 TAR DNA 结合蛋白 43(TDP-43)的表达,从而抑制炎症细胞因子升高,同时增加软骨细胞中应激颗粒形成,减少活化蛋白激酶 C1 受体水平^[27]。Yu 等^[28]将不同剂量(10、50 μg)淫羊藿苷锚定在纳米金刚石表面,观察淫羊藿苷对脂多糖诱导的巨噬细胞体外抗炎作用,结果发现淫羊藿苷抑制促炎元件中基质金属蛋白酶 3(MMP-3)、环氧化酶-2(COX-2)、IL-6 和 TNF- α 的 mRNA 水平,增加 RAW264.7 巨噬细胞中抗炎因子 IL-4 和 IL-10 的 mRNA 水平。此外动物实验也表明,关节内注射淫羊藿苷显著抑制碘乙酸钠诱导的大鼠骨关节炎模型血清中 IL-6、MMP-3 和 TNF- α 的水平,并诱导提高 IL-10 的水平,表明淫羊藿苷具有改善炎症及治疗软骨损伤疾病的良好潜力。李慧娟等^[29]将 3 种不同浓度(10、50、100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)淫羊藿苷药液负载于壳聚糖水凝胶中以构建软骨仿生支架,在软骨细胞模拟炎症情况下,3 种淫羊藿苷仿生支架均可降低软骨细胞纤维化,有效下调软骨细胞促炎因子 IL-6、IL-1 β 和诱导型一氧化氮合酶的表达,同时提高软骨细胞外基质中 GAG 和 II 型胶原的含量,其中以浓度为

10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 作用最佳,表现出良好的软骨损伤再生修复能力。

4 促进软骨细胞外基质合成

软骨细胞在细胞外基质成分合成中起主要作用,而蛋白水解酶则使其降解,当出现创伤、炎症或磨损等因素引起合成和降解之间不平衡时,最终会导致关节软骨损伤^[30]。淫羊藿苷能够促进软骨细胞合成GAG和II型胶原蛋白,上调软骨形成相关基因SOX9的表达,体现出良好的软骨形成能力^[31]。Zhang等^[32]通过体外细胞学实验得出淫羊藿苷浓度范围在 $1\times 10^{-7}\sim 5\times 10^{-5}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,浓度越高,软骨细胞外基质合成和软骨形成基因表达就越多。张君涛等^[33]将淫羊藿苷与透明质酸的结合物(摩尔比1:10)注入兔膝关节软骨缺损模型,每周1次,连续5周,术后12周发现该组软骨缺损表面基本完全修复,软骨组织II型胶原阳性表达率和国际软骨修复协会(ICRS)评分明显高于空白对照组,表明淫羊藿苷可通过提高软骨组织中II型胶原表达而发挥软骨修复作用。Cui等^[34]将淫羊藿苷与新型可注射纳米复合材料结合干预软骨细胞,发现该结合物不仅具有良好的生物相容性,还可以提高关节软骨细胞的增殖活性和分化能力,促进细胞外基质合成和软骨再生;动物实验也得到验证,将含有淫羊藿苷的复合材料植入兔膝关节软骨缺损部位,12周后发现缺损部位有软骨填充,可见光滑透明的新生软骨形成,与周围软骨组织良好融合。近年来随着中药血清药理学的发展,使得中药研究更加贴合体内药效的真实环境,Zhang等^[35]采用新西兰兔ig淫羊藿苷($0.94\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)以制备淫羊藿苷含药血清,并将取得的含药血清以0.5 mL注入兔软骨缺损模型,持续治疗5周,结果发现,与对照组注射0.9%氯化钠溶液相比,淫羊藿苷含药血清具有更强的软骨损伤修复能力,经甲苯胺蓝和II型胶原免疫荧光染色显示关节软骨缺损处表面更为光滑,可见新生软骨组织覆盖,软骨形态得到恢复。

基质金属蛋白酶(MMPs)是一类高度保守的蛋白酶,被认为是软骨细胞外基质降解的关键水解酶,其中以MMP-3和MMP-13的研究最为关注。刘益杰等^[36]通过 $10\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的IL-1 β 诱导软骨细胞退变,以低、高剂量(1×10^{-7} 、 $1\times 10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的淫羊藿苷连续干预软骨细胞72 h,结果发现,淫羊藿苷能够调控软骨细胞基质微环境,促进其II型胶原、GAG和SOX9基因表达,通过抑制细胞上清液中MMP-13的mRNA生成,拮抗IL-1 β 诱导的软骨细胞退变,从而

发挥软骨保护作用。李安琪等^[37]采用同样的方法,以低、高剂量(1 、 $5\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的淫羊藿苷干预软骨细胞3 d,结果发现,淫羊藿苷能够抑制炎症软骨细胞MMP-13和ADAMTS-5的表达,促进II型胶原和蛋白聚糖生成,维持软骨细胞表型和基质代谢,促进细胞外基质合成,以此达到修复软骨损伤的目的。

5 促进骨髓间充质干细胞迁移和成软骨分化

骨髓间充质干细胞(BMSCs)是一类来源于中胚层的干细胞群,具有自我更新和多项分化潜能,在软骨损伤修复过程中,BMSCs能够诱导成软骨分化,通过补充内源性软骨细胞,促进损伤软骨再生修复。研究表明,淫羊藿苷可通过多种作用途径增强BMSCs自我更新能力,促进其成软骨分化,同时淫羊藿苷还能够促进BMSCs的迁移能力,提高软骨损伤部位的细胞含量,更好发挥软骨损伤修复能力^[38]。张黎声等^[39]进行的体外细胞实验,发现 0.01 、 0.10 、 $1.00\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的淫羊藿苷均可促进大鼠BMSCs增殖并抑制体外缺糖缺氧引起的凋亡,通过提高受体趋化因子受体4(CXCR4)蛋白表达,促进BMSCs的迁移和成软骨分化,提高软骨损伤部位的细胞含量。Jiao等^[40]用不同浓度(0.1 、 1.0 、 $10.0\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)淫羊藿苷处理BMSCs,结果发现淫羊藿苷通过调节骨形态发生蛋白/母亲信号蛋白同源物(BMP/Smads)通路,以时间和浓度相关性方式促进BMSCs的II型胶原、聚集蛋白聚糖和骨形态发生蛋白2(BMP2)表达,提高BMSCs成软骨分化和增殖能力,同时体内移植修复软骨缺损模型(1×10^7 BMSCs, $10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 淫羊藿苷),每周1次,持续3周,发现淫羊藿苷联合BMSCs具有更强的软骨损伤修复能力。Tang等^[41]发现不同浓度(0.1 、 1.0 、 $10.0\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)淫羊藿苷作用于氧-葡萄糖剥夺的BMSCs后,BMP2、聚集蛋白和II型胶原的表达升高,表明淫羊藿苷能够诱导BMSCs成软骨分化,同时体内动物实验也发现,淫羊藿苷能够增强BMSCs的体内治疗效果,提高软骨样组织和缺损软骨表面细胞表达。

近年来,各种新兴生物材料的开发为治疗软骨损伤提供了新思路,水凝胶是一种三维网络结构的亲水聚合物,具有仿生软骨组织的特性,良好的生物相容性和可降解性使其成为理想的软骨组织工程修复材料。Zhu等^[42]制备含有低、中、高三种不同浓度(29.6 、 147.8 、 $738.9\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)淫羊藿苷的透明质酸水凝胶,该水凝胶可持续释放淫羊藿苷,体外细胞实验发现,负载低、中浓度淫羊藿苷的水凝胶可提高BMSCs的活力,促进其增殖和成软骨分化,

而高浓度的淫羊藿苷则显示对细胞增殖和活力的抑制作用;体内研究显示,关节内注射含有淫羊藿苷的水凝胶可通过诱导 BMSCs 软骨向分化显著促进损伤软骨愈合,并通过抑制炎症细胞因子 IL-10 和 MMP-13 的表达改善关节微环境。Li 等^[43]采用手术损伤膝关节建立软骨缺损大鼠模型,将浓度为 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的淫羊藿苷和 BMSCs 组合在海藻酸钠-透明质酸复合水凝胶中并植入大鼠关节腔内,治疗 8 周后发现,淫羊藿苷能够促进 BMSCs 的增殖和成软骨分化,提高软骨合成标志物聚集蛋白聚糖和 II 型胶原的表达,并诱导 BMSCs 迁移至软骨损伤部位。Zeng 等^[44]通过多功能水凝胶系统将浓度为 $1 \times 10^{-5} \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 淫羊藿苷与 BMSCs 结合注入大鼠软骨损伤模型中,每周 1 次,治疗 5 周后发现淫羊藿苷促使 BMSCs 的摄取提高 2 倍以上,增强了 BMSCs 的增殖和迁移能力,并且关节液和细胞内 MMP-13 分别降低 47% 和 59%,有效缓解了软骨损伤进程,促进关节软骨修复再生。

6 结语与展望

淫羊藿始载于《神农本草经》,在我国临床应用历史悠久,其主要成分淫羊藿苷具有广泛的药理活性,现代药理学研究显示淫羊藿苷对心脑血管、免疫、肿瘤、骨骼和内分泌等系统均有明显的治疗作用。动物实验证实淫羊藿苷能够保护受损关节软骨,改善软骨损伤,促进损伤软骨面的愈合再生,其主要作用机制是促进软骨细胞增殖分化并抑制过度凋亡,淫羊藿苷可通过 Hippo、Wnt/ β -catenin 及 PI3K/Akt/mTOR 等信号通路发挥促进细胞增殖和抑制凋亡作用。此外,淫羊藿苷还具有减轻炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 释放,降低炎症反应,改善关节腔内微环境,增强成骨细胞活性,抑制软骨下骨结构重塑,提高软骨 II 型胶原和糖胺聚糖含量,促进细胞外基质合成、促进 BMSCs 迁移和成软骨分化等作用,可从多种途径提高关节软骨细胞数量和功能表达,对软骨损伤具有良好的治疗和修复作用^[45]。另有研究^[46]表明淫羊藿苷可主要通过增加骨量和改善骨小梁微结构来最终提高骨强度,从而发挥治疗骨质疏松的作用。

虽然淫羊藿苷在促进软骨损伤修复方面具有广阔应用前景,但目前仍存在一些不足,概括为以下 4 点:(1)关于淫羊藿苷的研究大多处于体外细胞和动物实验阶段,缺乏高质量的临床试验研究,其修复软骨损伤的具体作用机制尚不完全清楚。(2)滑膜细胞是位于关节滑膜组织内层的免疫活性细

胞,能够调控炎症反应和提供软骨再生微环境,对软骨损伤修复也具有积极作用,但淫羊藿苷作用于滑膜细胞的相关研究较少。(3)关于淫羊藿苷的最佳作用浓度和时间仍需要进一步研究和确定,淫羊藿苷浓度过高会对细胞和组织产生抑制作用,细胞增殖实验显示淫羊藿苷的药效作用与浓度和时间具有明显相关性。(4)淫羊藿苷单体存在水溶性差、生物利用度低等问题,导致细胞和动物实验研究容易出现偏差。

未来应从淫羊藿苷的作用浓度、时间和靶向治疗对象等方面为切入点,加大对淫羊藿苷药理活性的基础和临床研究,明确其作用的具体机制和信号通路。考虑到淫羊藿苷难溶于水的问题,可采用中药血清药理学进行干预研究,以接近药物在体内产生药效的真实过程,因此还应该加强对淫羊藿苷含药血清的相关研究。随着生物支架材料的发展,将淫羊藿苷与生物支架材料相结合以增强其软骨修复能力,将成为软骨再生领域研究的热点方向,通过缓释系统缓慢释放药物,改变淫羊藿苷的制剂形式和给药途径,不仅提高了生物利用度,还能够避免浓度过高引起的毒副作用。综上,淫羊藿苷能够通过多种作用机制促进关节软骨修复再生,后续应深入研究淫羊藿苷的药理作用机制,充分挖掘其临床应用价值,以期对软骨损伤修复的新药研发提供依据参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Fujii Y, Liu L, Yagasaki L, et al. Cartilage homeostasis and osteoarthritis [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(11): 6316.
- [2] Ruediger T, Horbert V, Reuther A, et al. Thickness of the stifle joint articular cartilage in different large animal models of cartilage repair and regeneration [J]. *Cartilage*, 2021, 13(2_suppl): 438S-452S.
- [3] Mehran N, Singla V, Okoroha K R, et al. Functional outcomes and return to sport after cartilage restoration of the knee in high-level athletes [J]. *J Am Acad Orthop Surg*, 2021, 29(21): 910-919.
- [4] Moradi M, Parvizpour F, Arabpour Z, et al. Articular cartilage injury, current status and future direction [J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2024, 19(5): 653-661.
- [5] Curl W W, Krome J, Gordon E S, et al. Cartilage injuries: A review of 31, 516 knee arthroscopies [J]. *Arthroscopy*, 1997, 13(4): 456-460.
- [6] Briggs K, Philippon M, Trindade C, et al. Sport specific prevalence of chondral injuries in the hip [J]. *Br J Sports*

- Med, 2017, 51(4): 302-303.
- [7] Streck L E, Braun S, Spilo K, et al. How safe are intra-articular corticosteroid injections to the hip? [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2023, 24(1): 665.
- [8] Habibi A A, Karia R J, Ward S A, et al. Patient-reported outcomes following intra-articular hyaluronic acid for knee osteoarthritis [J]. J Arthroplasty, 2023, 38(6S): S36-S41.
- [9] Zhang X L, Tang B L, Wen S J, et al. Advancements in the biotransformation and biosynthesis of the primary active flavonoids derived from *Epimedium* [J]. Molecules, 2023, 28(20): 7173.
- [10] Bi Z Y, Zhang W, Yan X Y. Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of icariin and icaritin [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 151: 113180.
- [11] Zhang X Z, Cai D D, Zhou F F, et al. Targeting downstream subcellular YAP activity as a function of matrix stiffness with Verteporfin-encapsulated chitosan microsphere attenuates osteoarthritis [J]. Biomaterials, 2020, 232: 119724.
- [12] 鲍远, 聂铭博, 李孟伟, 等. 淫羊藿苷通过YAP促进大鼠关节软骨细胞增殖的研究 [J]. 生物骨科材料与临床研究, 2022, 19(4): 1-7.
Bao Y, Nie M B, Li M W, et al. Study on icariin promoting the proliferation of rat articular chondrocytes by YAP [J]. Orthop Biomech Mater Clin Study, 2022, 19(4): 1-7.
- [13] Wang P Z, Zhu P P, Zhang S H, et al. Icariin activates far upstream element binding protein 1 to regulate hypoxia-inducible factor-1 α and hypoxia-inducible factor-2 α signaling and benefits chondrocytes [J]. Peer J, 2023, 11: e15917.
- [14] Xiang W, Zhang J M, Wang R, et al. Role of IFT88 in icariin-regulated maintenance of the chondrocyte phenotype [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(4): 4999-5006.
- [15] 张帅, 刘益杰, 李瑜琳, 等. 淫羊藿苷促进软骨细胞增殖的机制研究 [J]. 中国医学前沿杂志: 电子版, 2019, 11(8): 41-45.
Zhang S, Liu Y J, Li Y L, et al. Study on the mechanism of icariin promoting the proliferation of chondrocytes [J]. Chin J Front Med Sci Electron Version, 2019, 11(8): 41-45.
- [16] 王鹏珍, 熊喜峰, 秦胜男, 等. 淫羊藿苷对藻酸盐3D体外培养下小鼠软骨细胞周期蛋白、 β -catenin表达的影响 [J]. 山东医药, 2020, 60(17): 30-33.
Wang P Z, Xiong X F, Qin S N, et al. Effects of icariin on expression of Cyclins and β -catenin in mouse chondrocytes under alginate 3D culture *in vitro* [J]. Shandong Med J, 2020, 60(17): 30-33.
- [17] 刘杰, 史超, 刘杨, 等. 淫羊藿苷联合富血小板血浆对骨性关节炎的软骨保护作用和分子机制研究 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2022, 22(8): 944-949, 954.
Liu J, Shi C, Liu Y, et al. Cartilage protective effect and molecular mechanism of icariin combined with platelet-rich plasma on osteoarthritis [J]. Eval Anal Drug Use Hosp China, 2022, 22(8): 944-949, 954.
- [18] Tang Y H, Li Y F, Xin D W, et al. Icariin alleviates osteoarthritis by regulating autophagy of chondrocytes by mediating PI3K/AKT/mTOR signaling [J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 2984-2999.
- [19] Chen Y, Pan X L, Zhao J, et al. Icariin alleviates osteoarthritis through PI3K/Akt/mTOR/ULK1 signaling pathway [J]. Eur J Med Res, 2022, 27(1): 204.
- [20] Jiang W H, Jin Y Y, Zhang S W, et al. PGE2 activates EP4 in subchondral bone osteoclasts to regulate osteoarthritis [J]. Bone Res, 2022, 10(1): 27.
- [21] Li J C, Fu X Y, Zhang D M, et al. Co-culture with osteoblasts up-regulates glycolysis of chondrocytes through MAPK/HIF-1 pathway [J]. Tissue Cell, 2022, 78: 101892.
- [22] Jiang A, Xu P, Yang Z, et al. Increased Sparc release from subchondral osteoblasts promotes articular chondrocyte degeneration under estrogen withdrawal [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2023, 31(1): 26-38.
- [23] Zhang D P, Su Y, He Q, et al. Icariin exerts estrogen-like actions on proliferation of osteoblasts *in vitro* via membrane estrogen receptors-mediated non-nuclear effects [J]. Iran J Pharm Res, 2022, 21(1): e127000.
- [24] 杨冰璇, 姜涛, 贾敏, 等. 淫羊藿苷增强自噬促进小鼠前成骨细胞的分化 [J]. 中国组织工程研究, 2022, 26(1): 64-69.
Yang B X, Jiang T, Jia M, et al. Icariin promotes differentiation of mouse preosteoblasts via activating autophagy [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2022, 26(1): 64-69.
- [25] Li M Z, Yin H, Yan Z N, et al. The immune microenvironment in cartilage injury and repair [J]. Acta Biomater, 2022, 140: 23-42.
- [26] Liu Y, Mi B B, Lv H J, et al. Shared KEGG pathways of icariin-targeted genes and osteoarthritis [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(5): 7741-7750.
- [27] Huang H, Wu P Y, Zhang Z F, et al. Icariin interferes with TDP43-induced inflammatory factor secretion and inhibits the JNK and p38 MAPK signaling pathway *in vitro* [J]. Arch Med Sci, 2021, doi: 10.5114/aoms/130460.
- [28] Yu Y, Kim S M, Park K, et al. Therapeutic nanodiamonds containing icariin ameliorate the progression of osteoarthritis in rats [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(21): 15977.
- [29] 李慧娟, 王先流, 沈炎冰, 等. 负载淫羊藿苷的壳聚糖基仿生支架的促软骨形成和炎症缓解作用 [J]. 生物工程

- 学报, 2022, 38(6): 2308-2321.
- Li H J, Wang X L, Shen Y B, et al. Chondrogenic and ameliorated inflammatory effects of chitosan-based biomimetic scaffold loaded with icariin [J]. Chin J Biotechnol, 2022, 38(6): 2308-2321.
- [30] Lin S F, Guo H Y, You X X, et al. SND1 aggravates mitochondrial damage, apoptosis and extracellular matrix degradation in IL-1 β -stimulated chondrocytes via PINK1/BECN1 pathway [J]. Eur J Med Res, 2023, 28(1): 371.
- [31] Liu M H, Sun J S, Tsai S W, et al. Icariin protects murine chondrocytes from lipopolysaccharide-induced inflammatory responses and extracellular matrix degradation [J]. Nutr Res, 2010, 30(1): 57-65.
- [32] Zhang L, Zhang X, Li K F, et al. Icariin promotes extracellular matrix synthesis and gene expression of chondrocytes *in vitro* [J]. Phytother Res, 2012, 26(9): 1385-1392.
- [33] 张君涛, 张栋林, 吴超超, 等. 淫羊藿苷与透明质酸结合物的制备及其对膝关节软骨缺损兔软骨组织的保护作用 [J]. 山东医药, 2018, 58(16): 30-33.
- Zhang J T, Zhang D L, Wu C C, et al. Preparation of icariin-hyaluronic acid conjugate and its protective effect on cartilage tissue of rabbit with knee joint cartilage defect [J]. Shandong Med J, 2018, 58(16): 30-33.
- [34] Cui P L, Pan P P, Qin L, et al. Nanoengineered hydrogels as 3D biomimetic extracellular matrix with injectable and sustained delivery capability for cartilage regeneration [J]. Bioact Mater, 2023, 19: 487-498.
- [35] Zhang J T, Ming D, Ji Q, et al. Repair of osteochondral defect using icariin-conditioned serum combined with chitosan in rabbit knees [J]. BMC Complement Med Ther, 2020, 20(1): 193.
- Liu Y J, Chen S X, Zhao X L, et al. Protective effect of Icariin on interleukin-1 β -induced chondrocyte degeneration [J]. J Tongji Univ: Med Sci, 2018, 39(02): 56-60.
- [36] 刘益杰, 陈世宣, 赵仙丽, 等. 淫羊藿苷对白介素-1 β 诱导软骨细胞退变的保护作用 [J]. 同济大学学报: 医学版, 2018, 39(2): 56-60.
- Liu Y J, Chen S X, Zhao X L, et al. Icariinin protects chondrocytes from IL-1 β -induced degeneration [J]. J Tongji Univ Med Sci, 2018, 39(2): 56-60.
- [37] 李安琪, 刘益杰, 冯伟, 等. 淫羊藿苷对 IL-1 β 诱导的炎症性软骨细胞表型与代谢的影响 [J]. 上海中医药杂志, 2018, 52(2): 99-103.
- Li A Q, Liu Y J, Feng W, et al. Effects of icariin on phenotype and metabolism in IL-1 β -induced inflammatory chondrocytes [J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 2018, 52(2): 99-103.
- [38] Wang Z C, Sun H J, Li K H, et al. Icariin promotes directed chondrogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells but not hypertrophy *in vitro* [J]. Exp Ther Med, 2014, 8(5): 1528-1534.
- [39] 张黎声, 韩小晶, 罗志荣, 等. 淫羊藿苷对大鼠骨髓间充质干细胞迁移作用的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2017, 24(2): 44-48.
- Zhang L S, Han X J, Luo Z R, et al. Effects of icariin on migration of mesenchymal stem cells of rat bone marrow [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2017, 24(2): 44-48.
- [40] Jiao F, Tang W, Wang J, et al. Icariin promotes the repair of bone marrow mesenchymal stem cells in rabbit knee cartilage defects via the BMP/Smad pathway [J]. Ann Transl Med, 2022, 10(12): 691.
- [41] Tang W, Zhang H Y, Liu D H, et al. Icariin accelerates cartilage defect repair by promoting chondrogenic differentiation of BMSCs under conditions of oxygen-glucose deprivation [J]. J Cell Mol Med, 2022, 26(1): 202-215.
- [42] Zhu Y F, Ye L, Cai X X, et al. Icariin-loaded hydrogel regulates bone marrow mesenchymal stem cell chondrogenic differentiation and promotes cartilage repair in osteoarthritis [J]. Front Bioeng Biotechnol, 2022, 10: 755260.
- [43] Li S Y, Yuan Q, Yang M H, et al. Enhanced cartilage regeneration by icariin and mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles combined in alginate-hyaluronic acid hydrogel [J]. Nanomed-Nanotechnol Biol Med, 2024, 55: 102723.
- [44] Zeng J, Sun P, Zhao Y Q, et al. Bone mesenchymal stem cell-derived exosomes involved co-delivery and synergism effect with icariin via mussel-inspired multifunctional hydrogel for cartilage protection [J]. Asian J Pharm Sci, 2023, 18(3): 100799.
- [45] 李远栋, 王世坤, 杨东元, 等. 淫羊藿苷防治膝骨性关节炎作用机制的研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(8): 2652-2658.
- Li Y D, Wang S K, Yang D Y, et al. Research progress on mechanism of icariin in prevention and treatment of knee osteoarthritis [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(8): 2652-2658.
- [46] 刘亚林, 黄冕, 冯晶, 等. 基于Micro-CT技术分析淫羊藿苷和朝藿定C对糖皮质激素性骨质疏松症小鼠骨组织微结构的影响 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(9): 1733-1739.
- Liu Y L, Huang M, Feng J, et al. Effects of icariin and epimedium C on microstructure of bone tissue in glucocorticoid osteoporosis model mice based on Micro-CT technique [J]. Drug Eval Res, 2020, 43(9): 1733-1739.