

线粒体自噬在骨性关节炎中的调控机制及中医药干预研究进展

Research status of regulatory mechanism of mitochondrial autophagy in osteoarthritis and intervention of traditional Chinese medicine

张循儒¹, 李红专², 王 飞¹,
陈宗阳¹, 梁家齐¹, 温力鹏¹,
李中锋²

(1. 甘肃中医药大学 研究生院, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省中医院 脊柱疾病诊疗中心, 甘肃 兰州 730050)

ZHANG Xun - ru¹, LI Hong - zhuan²,
WANG Fei¹, CHEN Zong - yang¹,
LIANG Jia - qi¹, WEN Li - peng¹,
LI Zhong - feng²

(1. Graduate School of Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, Gansu Province, China; 2. Spinal Disease Diagnosis and Treatment Center, Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, Gansu Province, China)

基金项目: 甘肃省临床医学研究中心建设基金资助项目 (18JR2FA009); 甘肃省科技计划基金资助项目 (21YF5FA025); 甘肃省中医药科研基金资助项目 (GZKP - 2023 - 4)

作者简介: 张循儒 (1997 -), 男, 硕士研究生, 主要从事中医药治疗骨伤病的研究

通信作者: 李红专, 主任医师, 硕士研究生导师
MP: 15002552158

E - mail: 690050699@qq.com

摘要: 骨性关节炎作为一种常见于老年人的退行性骨病, 尤其好发于负重关节如膝关节。其病因是多因素的, 特点是关节结构发生病理变化, 包括关节软骨的破坏和退化、炎症反应以及骨赘的形成。截至目前, 临床上对于骨性关节炎的治疗主要是对症治疗和缓解疼痛, 尚无确切疗法能够逆转骨性关节炎中软骨损伤的病理进程。而近年来, 国内外学者研究发现, 线粒体作为软骨细胞重要的细胞器, 在细胞的代谢、增殖和凋亡过程中扮演着重要角色。研究还指出, 线粒体自噬失衡是导致关节内软骨损伤的一个重要因素。与此同时, 多项基础实验表明, 中医药通过靶向调节线粒体自噬, 展现出保护软骨的潜力, 从而在防治骨性关节炎方面显示出积极效果。然而, 关于这一领域的研究尚未得到系统性的阐述。鉴于此, 笔者将从线粒体自噬对骨性关节炎发生发展的影响及中医药干预线粒体自噬治疗骨性关节炎的作用进行系统性阐述, 以为中医药治疗骨性关节炎的新药研发及治疗策略提供新的思路和方法。

关键词: 中医药; 骨性关节炎; 软骨损伤; 线粒体自噬

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.18.020

中图分类号: R28 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-6821(2025)18-2685-07

Abstract: Osteoarthritis, a degenerative bone disease commonly seen in the elderly, is particularly prevalent in weight-bearing joints such as the knee. Its etiology is multifactorial and characterized by pathological changes in the joint structure, including destruction and degeneration of articular cartilage, inflammatory response and formation of bone capillaries. Up to now, clinical treatment for osteoarthritis is mainly symptomatic treatment and pain relief, and there is no exact therapy that can reverse the pathological process of cartilage damage in osteoarthritis. In recent years, domestic and foreign scholars have found that mitochondria, as important organelles of chondrocytes, plays an important role in the process of cell metabolism, proliferation and apoptosis. It is also pointed out that mitochondrial autophagy imbalance is an important factor leading to cartilage damage in joints. Meanwhile, several basic experiments have shown that Chinese medicine exhibits the potential to protect cartilage by targeting the regulation of mitochondrial autophagy, thus showing positive results in the prevention and treatment of osteoarthritis. However, studies on this area have not been systematically elaborated. In view of this, the authors will systematically elaborate on the effects of mitochondrial autophagy on the development of

osteoarthritis and the role of TCM in interfering with mitochondrial autophagy in the treatment of osteoarthritis, with the aim of providing new ideas and methods for the development of new medicines and therapeutic strategies for the treatment of osteoarthritis with TCM.

Key words: traditional Chinese medicine; osteoarthritis; cartilage damage; mitochondrial autophagy

骨性关节炎(osteoarthritis, OA)是一种以关节软骨进行性退化为核心特征的慢性关节疾病^[1],其发病与性别、年龄、肥胖、滑膜炎及既往创伤等因素密切相关^[2]。流行病学数据显示,全球约16%人口受OA影响,且女性发病率更高^[3]。随着我国人口老龄化程度的加剧,OA发病率将显著上升^[4]。预计2030年将成为普通人群残疾的主要原因之一^[5]。因此,如何降低OA的发病率,改善患者生活质量,是当前医学领域关注的焦点之一。近年来,中医药因药物不良反应较小、作用靶点多、治疗范围广等优势,在OA治疗中展现出良好前景^[6]。线粒体主要负责为细胞存活提供能量,同时还在细胞分化、凋亡和自噬中发挥重要作用^[7]。研究发现,线粒体稳态对于软骨细胞的存活和功能至关重要^[8]。线粒体自噬作为线粒体功能之一,其通过消除受损线粒体,能使线粒体正常发挥功能,从而延缓软骨细胞的退化^[9]。已有研究表明,中药通过调控线粒体自噬能够达到防治OA的作用,其具体途径是通过调控线粒体调节因子来实现对线粒体质量控制(mitochondrial quality control, MQC)的调节,从而维持MQC功能正常发挥以防止软骨中软骨细胞的死亡^[10]。因此,中药调控线粒体自噬是防治OA的重要策略。鉴于此,本文将从中药调控线粒体自噬防治OA展开研究,以期对OA的防治提供新的预防策略。

1 OA的发病机制

软骨细胞是维持正常结构和功能的关键细胞,在病理状态下,其会受到多种因素刺激。具体表现为合成代谢减弱、增殖能力下降以及凋亡增加等,使得软骨组织难以维持正常的结构和修复功能^[11],从而导致关节软骨的退变。在OA中,软骨下骨的变化也很重要。关节软骨若无法承受横向应力,易产生剪力,致使软骨出现水平状劈裂,进而影响到软骨下骨的正常结构和功能,导致骨赘形成和硬化等,从而影响关节的正常力学环境,促进OA的发展^[12]。此外,炎症在OA的早期进展中亦发挥重要作用。关节软骨的损伤和退变可释放出一些炎性介质,刺激滑膜细胞产生炎症反应。滑膜细胞会分泌肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素1(interleukin-1, IL-1)、IL-6、IL-17和白细胞介素-1 β

(interleukin-1 β , IL-1 β)等炎症介质^[13],其中TNF- α 等细胞因子可通过激活相关信号通路,进一步激活软骨细胞和破骨细胞,促进软骨基质中如胶原蛋白等成分的降解以及骨质吸收,进而加重关节的炎症和损伤程度,加剧OA的发展。

2 线粒体自噬的概述

线粒体自噬是维持线粒体稳态的基本机制,它能够清除受损的线粒体、抑制细胞凋亡,进而维持线粒体的平衡以及细胞内环境的稳定^[14]。线粒体自噬通过特定的线粒体外膜受体与泛素分子形成包裹线粒体的自噬体,从而促进线粒体进行自噬^[15]。蛋白酪氨酸磷酸酶基因诱导假定激酶1(PTEN-induced kinase 1, PINK1)/E3泛素连接酶(E3 ubiquitin-protein ligase, Parkin)途径是线粒体自噬的重要通路之一^[16]。PINK1是一种丝氨酸激酶,可以在线粒体外膜积聚,并在线粒体外膜促进Parkin转至线粒体表面,诱导线粒体蛋白泛素化、P62蛋白和自噬体微管相关蛋白轻链3(microtubule-associated protein light chain-3, LC3)特异性结合,从而促进自噬体膜的募集,并启动受损线粒体的清除^[17]。

3 线粒体自噬与OA

线粒体自噬在软骨细胞功能维系及软骨稳态调控中发挥着不可或缺的作用。现有研究证据表明,线粒体自噬参与了OA进程中软骨细胞凋亡及软骨基质降解的病理过程^[18]。具体而言,抑制线粒体自噬可诱导软骨损伤加剧及软骨细胞凋亡率升高,而激活线粒体自噬则能促进软骨细胞存活,并减少OA中软骨基质的降解。IL-1 β 被认为是OA发病机制中的关键因素,已被证实可下调线粒体融合标志物线粒体融合蛋白1(mitofusin-1, Mfn1)的表达水平,同时降低线粒体自噬标志物PINK1及Parkin的表达。WANG等^[19]通过MitoSox Red探针结合Micro P图像分析技术开展的研究显示,与模型组相比,鸢尾素处理组可显著改善IL-1 β 介导的软骨细胞生长抑制、特异性软骨标志物缺失及糖胺聚糖合成减少等现象。

此外,鸢尾素还能逆转沉默信息调节因子2相关酶3(sirtuin 3, SIRT3)和解偶联蛋白1(uncoupling protein 1, UCP-1)通路的异常,通过改善线粒体膜电位、增加三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)生

成量及过氧化氢酶含量,减轻 IL-1 β 诱导的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 过量产生、线粒体融合异常、线粒体自噬缺陷及自噬体形成障碍,进而发挥抑制 OA 进展的作用。ANSARI 等^[20] 研究证实, Parkin 介导的线粒体自噬在 OA 中具有重要调控作用,其作用机制是激活 Parkin 促进线粒体自噬清除受损的线粒体。研究者用小干扰 RNA 介导的基因敲除技术靶向沉默 Parkin,结果显示,与转染对照小干扰 RNA 的 OA 软骨细胞相比,转染 Parkin 特异性干扰小 RNA 的 OA 软骨细胞中 Parkin 的表达水平显著下调。通过电子显微镜观察及线粒体活性氧生成检测发现,在 IL-1 β 刺激条件下, Parkin 敲除的 OA 软骨细胞中受损/功能障碍线粒体的积累量显著增加。为探究 IL-1 β 刺激的 OA 软骨细胞中去极化/功能障碍线粒体的线粒体自噬清除效率,研究者采用 LC3 特异性抗体免疫染色标记自噬体,并结合 Mitotracker 染色标记线粒体,通过共定位分析明确 2 者的相互作用。结果显示,经 IL-1 β 处理的软骨细胞中, LC3 阳性自噬体的形成数量增加,且这些自噬体与线粒体存在共定位现象。在线粒体自噬进程中,自噬体最终与溶酶体融合,功能障碍的线粒体在此过程中发生降解,这一机制对于维持 MQC 的稳定性及抑制 OA 软骨中软骨细胞的凋亡具有重要意义。SHIN 等^[21] 通过大鼠模型实验证实, PINK1 的抑制可导致线粒体自噬功能减退,进而引发软骨细胞炎症反应增强及氧化应激水平升高。

在单碘乙酸诱导的 OA 动物模型中,研究者利用 PINK1 基因敲除小鼠构建体内 PINK1 缺陷模型,结果显示,该模型中软骨退变程度及软骨细胞内与线粒体自噬相关的自噬性细胞死亡均显著降低。基于上述结果,研究者在单碘乙酸注射后的 PINK1 基因敲除小鼠中开展行为学评估,发现与同窝对照小鼠相比, PINK1 基因敲除小鼠在处理第 3 天,单碘乙酸诱导的机械性痛觉过敏症状显著缓解。此外,通过免疫染色检测 PINK1 的表达水平,证实 PINK1 缺陷可减轻单碘乙酸诱导的软骨损伤。上述研究结果提示, PINK1 调控的线粒体自噬可能是 OA 软骨损伤发生发展的重要机制之一。

此外, WANG 等^[22] 通过对 OA 的 RNA 表达谱进行生物信息学分析,筛选出 2 159 个差异表达基因,并从中鉴定出 6 个与线粒体自噬及 OA 相关的候选基因。基因本体 (gene ontology, GO) 富集分析结果显示,上述基因参与线粒体自噬、细胞稳态调控及细胞凋亡等生物学过程,京都基因与基因组百科全书

(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 通路分析表明, 6 个基因中的 5 个参与自噬相关生物学过程,涉及线粒体自噬、自噬、叉头框蛋白 O (forkhead box O, FoxO) 信号通路及爱帕琳肽 (Apelin) 信号通路。基因集富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA) 结果显示,这 6 个基因与 P53 信号通路、NOD 样受体 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors, NLRs) 信号通路、溶酶体功能及甘油三酯代谢存在关联,其中与 P53 信号通路和 NLRs 信号通路的关联具有统计学意义,其标准化富集得分 >1.5 ($P < 0.05$), 错误发现率 (false discovery rate, FDR) q 值 <0.25 。该研究结果证实线粒体自噬与 OA 进展之间存在显著关联,并揭示了特定枢纽基因的重要性。综上,这些发现为线粒体自噬靶向疗法在促进 OA 软骨细胞存活中的应用提供了理论依据。

4 中医药靶向调控线粒体自噬防治 OA

4.1 中药复方靶向调控线粒体自噬防治 OA

膝痹宁 II (Xibining II, XBN) 是由淡附片、桂枝、川牛膝、制狗脊、独一味、山萸肉、生薏苡仁、巴戟天、炒白芍、生甘草等中药组成的方剂,在防治 OA 方面具有独特作用。康俊峰等^[23] 人的研究发现, XBN 可通过激活 SIRT1/PINK1/Parkin 信号通路,促使线粒体自噬水平升高,增加 PINK1、Parkin、P62 和 LC3A/B 蛋白的表达 ($P < 0.05$),同时降低软骨细胞基质金属蛋白酶 3 (matrix metalloproteinase-3, MMP-3)、MMP-13 和含血小板结合蛋白基序的解聚素金属蛋白酶 5 (A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 5, ADAMTS5) 的表达 ($P < 0.05$),从而增强线粒体自噬能力,改善线粒体功能,延缓软骨细胞的退化,达到防治 OA 的作用。

蠲痹汤是中医临床常用方剂之一,郑永智等^[24] 的研究证实,用不同剂量 (1.24、2.48、4.96 g $\cdot$ kg⁻¹) 的蠲痹汤作用于大鼠软骨细胞后,模型组和低、中、高剂量试验组的软骨细胞存活率分别为 (51.08 $\pm$ 2.96)%、(69.44 $\pm$ 4.07)%、(82.36 $\pm$ 3.81)% 和 (88.05 $\pm$ 4.17)%、低、中、高剂量试验组的软骨细胞存活率与模型组相比均显著升高。进一步机制研究显示,蠲痹汤可减轻 IL-1 β 介导的软骨细胞损伤,显著上调 II 型胶原蛋白 (type II collagen, COL2)、PINK1、Parkin、LC3 蛋白的表达水平,并增强线粒体自噬活性 (均 $P < 0.05$),同时显著下调半胱氨酸蛋白酶蛋白 3 (caspase-3) 的蛋白表达水平及 IL-6、IL-8 和 TNF- α 的分泌水平 (均 $P < 0.05$),上述研究结果表明蠲痹汤可通过调控磷酸化腺苷酸激活蛋白激酶 (adenosine 5'-mono-

phosphate-activated protein kinase, AMPK)/PINK1/Parkin 信号通路,促进线粒体自噬表达,进而延缓软骨细胞的退化进程。

肖思奇等^[25]研究显示,用骨痹方($0.5\text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)处理大鼠软骨细胞后,与模型组相比,模型组和试验组的软骨细胞增殖光密度(optical density, OD)值分别为 0.86 ± 0.06 和 0.69 ± 0.04 ,试验组和模型组软骨细胞中的LC3蛋白相对表达水平分别为 5.54 ± 0.24 和 0.85 ± 0.03 ;PINK1蛋白相对表达水平分别为 8.44 ± 1.05 和 0.52 ± 0.01 ;Parkin蛋白相对表达水平分别为 0.20 ± 0.01 和 0.68 ± 0.01 ,试验组的上述指标均显著低于模型组(均 $P < 0.05$),而B细胞超大淋巴瘤(B-cell lymphoma-extra large, Bcl-xL)、骨髓样细胞白血病序列-1(myeloid cell leukemia-1, Mcl-1)的表达则显著增加(均 $P < 0.05$),上述研究表明,骨痹方可延缓软骨细胞的退化进程,其核心作用机制在于通过调控PINK1/Parkin信号通路,进而抑制OA的病理进展。

YU等^[26]研究表明,通过Hulth手术建立OA模型大鼠后,用不同浓度($0, 50, 100, 150, 200\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)的骨痹痛方(Gubitongfang, GBT)水提物处理大鼠软骨细胞,结果显示,各组软骨细胞活力分别为103%、102%、105%和106%,与空白对照组相比呈显著提升。在脂多糖诱导的体外软骨细胞实验中,模型组细胞出现线粒体去极化程度加剧及线粒体自噬过度激活的现象,而GBT处理可显著缓解上述病理改变。进一步检测发现,脂多糖刺激的软骨细胞中MMP-13、PINK1和Parkin水平以及线粒体组分中的LC3II/LC3I比值均显著升高(均 $P < 0.05$),且GBT能以剂量依赖性方式抑制这些指标的升高。此外,GBT还可减轻脂多糖诱导的磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/AKT)通路异常激活,从而有效抑制OA大鼠软骨细胞的变性进程。

4.2 中药单体靶向调控线粒体自噬防治OA

人工虎骨粉作为一种人工合成的虎骨替代品,其生物活性与天然虎骨具有相似性。研究表明,用不同浓度的人工虎骨粉作用于大鼠软骨细胞后,与对照组相比,ROS水平降低、线粒体膜电位稍恢复、ATP生成量增加,同时电压依赖性阴离子通道1(voltage dependent anion channel 1, VDAC 1)、线粒体标志蛋白线粒体外膜转位酶20(translocase of outer mitochondrial membrane 20, TOMM 20)及MMP-13的表达水平均显著下调(均 $P < 0.05$),而PINK1、Parkin、AMPK、

LC3B的表达水平均显著上调(均 $P < 0.05$)。其中15%浓度的人工虎骨粉含药血清干预大鼠OA软骨细胞模型24 h后对软骨分解代谢标志蛋白MMP-13的抑制效果最佳。上述研究提示,人工虎骨粉可通过激活AMPK/PINK1/Parkin信号通路,促进线粒体自噬过程,并抑制MMP-13的表达,进而减少软骨基质的降解,最终发挥防治OA的作用^[27]。

XIA等^[28]研究显示,分别用SIRT3的天然激动剂二氢杨梅素和化学抑制剂3-TYP处理软骨细胞后,SIRT3在保护软骨细胞外基质中表现出积极调控作用。分子层面的研究进一步证实,SIRT3诱导的软骨保护作用依赖于对线粒体凋亡的抑制和对线粒体自噬的激活,其可显著上调B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)蛋白的表达水平($P < 0.05$),同时显著下调B细胞淋巴瘤-2相关X蛋白(BCL2-associated X protein, Bax)的表达水平($P < 0.05$),进而实现对软骨细胞外基质的保护及软骨细胞凋亡的延缓。上述研究表明,藤茶提取物中的二氢杨梅素可通过激活SIRT3蛋白,发挥治疗OA的作用。

钩吻素子是钩吻的主要活性成分,相关研究表明,通过构建大鼠OA模型并进行分组干预,分别以 $1\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 美洛昔康及 $1\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 钩吻素子连续2周灌胃后,采集全血、血清及软骨后检测。结果显示,钩吻素子组中自噬及线粒体自噬相关mRNA与蛋白表达水平显著上调,线粒体膜电位显著提高(均 $P < 0.05$),同时ROS的氧化应激及炎症因子的表达降低(均 $P < 0.05$),这表明钩吻素子可通过促进线粒体自噬过程,改善软骨损伤,进而发挥抑制OA进展的作用^[29]。

青蒿素是从黄花蒿中提取出的一种倍半萜内酯类化合物^[30],LI等^[31]研究发现,向软骨细胞中分别加入不同浓度($0, 2.5, 5, 10$ 或 $20\text{ }\mu\text{M}$)的青蒿素,并分别培养0、24、48及72 h后,当浓度为 $0 \sim 10\text{ }\mu\text{M}$ 的青蒿素对OA软骨细胞增殖有轻微促进作用,而当浓度为 $20\text{ }\mu\text{M}$ 时,可显著增强软骨细胞的增殖能力,故将 $20\text{ }\mu\text{M}$ 作为最适浓度。进一步研究表明,青蒿素处理组的软骨细胞凋亡率显著低于对照组,MMP-3和MMP-13的蛋白及mRNA表达水平均显著降低(均 $P < 0.05$),同时线粒体自噬过程得到促进,自噬效应蛋白-1(becnin 1 protein, Beclin-1)、自噬相关蛋白5(autophagy related 5, ATG5)和LC3的表达水平均显著上调(均 $P < 0.05$),但对ADAMTS5 mRNA表达水平无显著影响。上述研究表明,青蒿素可通过介导PI3K/AKT/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian

target of rapamycin, mTOR) 信号通路, 发挥抑制软骨细胞凋亡的作用。

姜黄素是从中药姜黄中分离出来的一种多酚化合物, 其在祖国传统医学中被广泛用于治疗 OA 和类风湿性关节炎^[32]。研究表明, 姜黄素的作用与线粒体自噬调节及 AMPK/PINK1/Parkin 信号通路存在密切关联, 该研究通过向大鼠关节内注射单碘乙酸构建 OA 模型, 对 8~12 周龄的各组大鼠分别用姜黄素、化合物 C 及环孢素 A 进行干预, 并结合苏木精-伊红染色与甲苯胺蓝染色技术开展分析。结果显示, 与对照组相比, 大鼠 OA 模型出现软骨基质水肿、空泡形成、微骨折及甲苯胺蓝染色变浅等典型病理改变, 而经姜黄素处理的 OA 组, 其软骨退变程度有所减轻, 且可见软骨细胞增殖现象。机制研究证实, 姜黄素可提高线粒体膜电位、增加 ATP 生成量, 以及上调 LC3B、PINK1、AMPK 和 Parkin 等蛋白的表达水平 (均 $P < 0.05$), 同时抑制 Ca^{2+} 及 ROS 的过量产生 (均 $P < 0.05$), 从而发挥保护软骨细胞、延缓 OA 疾病进展的作用^[33]。

黄芩苷是从双子叶植物黄芩的根中提取出来的一种黄酮类化合物, 已被证实对 OA 具有显著的防治作用^[34]。HE 等^[35]研究显示, 用不同浓度 (10、20 和 40 μM) 的黄芩苷作用于 IL-1 β 诱导的大鼠软骨细胞后, 模型组和低、中、高剂量试验组的软骨细胞凋亡率分别为 (48.32 $\pm$ 0.46)% (39.42 $\pm$ 0.04)%、(21.42 $\pm$ 0.31)% 及 (3.45 $\pm$ 0.08)%, 试验组的细胞凋亡率显著小于模型组, 同时, 黄芩苷可减轻软骨细胞受损, 提高 IL-1 β 诱导的大鼠软骨细胞活力, 促进自噬及线粒体自噬过程, 升高线粒体膜电位, 并抑制细胞凋亡 (均 $P < 0.05$)。进一步机制研究表明, 黄芩苷可上调 IL-1 β 诱导的大鼠软骨细胞中 LC3-II/LC3-I 以及 Becl-2、Beclin-1、线粒体动力相关蛋白 1 (dynamin-related protein 1, Drp1)、PINK1 和 Parkin 等蛋白的表达水平 (均 $P < 0.05$), 同时下调 P62、Bax、Caspase-3、P-PI3K/PI3K、Drp1 和 P-mTOR/mTOR 蛋白表达水平 (均 $P < 0.05$)。上述数据表明, 黄芩苷通过抑制 PI3K/AKT/mTOR 通路, 可有效激活 PINK1/Parkin 和 PINK1/Drp1 通路, 同时激活 IL-1 β 诱导的软骨细胞中的线粒体自噬, 从而减轻软骨细胞损伤。

原儿茶醛 (protocatechuic aldehyde, PCA) 又名 3, 4-二羟基苯甲醛, 是从中药丹参中提取的水溶性单体^[36], 研究通过构建内侧半月板不稳手术模型 (该模型已知会诱发炎症和关节软骨缺损) 开展相关实验,

显微 CT 扫描结果显示, 与正常组小鼠相比, 内侧半月板不稳手术模型组小鼠出现关节间隙异常狭窄、软骨表面密度升高及明显骨赘形成等病理改变。同时, OA 进程伴随骨密度面积减少、骨小梁分离度增加及结构模型指数增大。而经 PCA 处理后, 上述病理改变均得到显著缓解。机制研究表明, PCA 处理可显著提高 ATP 含量, 升高线粒体膜电位, 同时上调自噬相关蛋白 PINK1、LC3、Parkin 表达水平 (均 $P < 0.05$), 此外, 还能降低 ROS 水平, 下调衰老相关蛋白 P21、P53 和 P62 的表达, 以及减少软骨降解蛋白 MMP-3、MMP-13, 并降低 COL2 的降解 (均 $P < 0.05$)。上述研究提示, PCA 可通过激活 PINK1/Parkin 信号通路调控线粒体自噬功能, 进而延缓软骨细胞的退化进程^[37]。

苍术素是从中药苍术中提取的一种烯烴类化合物^[38], 研究发现, 用不同浓度 (3、6 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 的苍术素处理膝关节炎大鼠模型后, 模型组和低、高剂量试验组的软骨细胞凋亡率分别为 (22.35 $\pm$ 5.64)%、(14.83 $\pm$ 4.57)% 和 (8.27 $\pm$ 2.63)%, 试验组的细胞凋亡率均显著低于模型组 (均 $P < 0.05$)。同时, 自噬相关蛋白 Parkin、LC3、LC3 II/LC3 I、Beclin-1、PINK1 的表达水平均显著上调 (均 $P < 0.05$), 而 TNF- α 、IL-1 β 、裂解的半胱天冬酶-3 的表达均显著下调 (均 $P < 0.05$)。此外, 膝关节软骨损伤有所减轻, ROS 水平降低。上述结果表明苍术素可通过激活 PINK1/Parkin 信号通路增强线粒体自噬, 减少软骨细胞凋亡, 进而抑制 OA 的进展^[39]。

白芍总苷是从毛茛科植物芍药的干燥根中提取出的糖苷类物质。研究发现, 用不同剂量 (10、20 及 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的白芍总苷处理小鼠关节软骨细胞 48 h 后, 模型组和低、中、高剂量试验组的软骨细胞凋亡率分别为 (26.77 $\pm$ 0.93)%、(21.50 $\pm$ 2.70)%、(19.03 $\pm$ 1.89)% 和 (13.33 $\pm$ 1.29)%, 试验组的细胞凋亡率均小组低于模型组 (均 $P < 0.05$)。同时, 白芍总苷可上调 LC3 I/II 和自噬相关蛋白 Beclin-1 的表达水平 (均 $P < 0.05$), 增加线粒体膜电位, 并显著抑制 P62、MMP-3 和 MMP-13 基因的表达 (均 $P < 0.05$), 其具体作用机制是白芍总苷可逆转 IL-1 β 对 mTOR/PI3K/Akt 信号通路的异常调节, 通过改善线粒体功能及线粒体自噬活性, 发挥保护软骨细胞、抑制其死亡的作用^[40]。

5 小结与展望

本研究主要阐述了中医药通过靶向调控线粒体自噬来实现防治 OA 的目的。其主要的作用机制是中

药单体及复方通过激活 PINK1/Parkin 通路,上调 LC3 II、PINK1、Parkin 等自噬相关蛋白的表达,激活线粒体自噬清除受损的线粒体确保 MQC 的稳定,从而减少软骨细胞的死亡,达到防治 OA 的作用。尽管中医药在一定程度上可通过调节线粒体自噬发挥防治 OA 的功效。但目前依旧存在诸多问题和难点亟待攻克。首先,尽管已经发现许多信号通路参与了线粒体的调控,但精确的调控机制仍需进一步研究,以发现特异性强且有效的药物靶点。其次,在线粒体治疗靶点方面,虽然中药已被证明可通过调控线粒体自噬来预防 OA 的发生和发展,但其研究局限于细胞和动物模型实验,而且多以中药为主,针灸疗法在调控线粒体自噬防治 OA 方面虽有研究^[41-42],但受限于研究方法、技术手段等多种因素,相关研究相对较少。基于此,未来仍需要进一步探索线粒体相关机制在防治 OA 方面的靶点,进一步为 OA 的精准治疗提供科学依据和新思路。而且还需要充分发挥网络药理学的特点与优势,从而挖掘出更多疗效确切的治疗药物,进一步推动中医药在 OA 治疗中的应用。

此外,相关研究表明,线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 是线粒体的基因核心,mtDNA 的损伤会导致软骨细胞中 MQC 紊乱和软骨的退化^[43]。研究者通过对受试者初始亚组中线粒体 mtDNA 变异的筛选及荟萃分析发现,mtDNA 变异 *m. 16519C* 在 OA 快速进展者中呈现过度表达,且在统计学上差异有统计学意义($P < 0.05$)。进一步研究显示,携带该变异的胞质杂种表现出 mtDNA 拷贝数增多、线粒体生物合成能力下降、ROS 生成量升高、氧化应激抵抗力减弱、线粒体分裂相关基因表达下调及自噬功能受损等特征。综上,mtDNA 变异 *m. 16519C* 的存在可能增加 OA 快速进展的风险。所以就未来前景而言,特定的 mtDNA 有可能会成为 OA 辅助诊断和预后的生物标志物,因此针对 mtDNA 的治疗可能是 OA 的一种新型治疗选择。

参考文献:

[1] MOTTA F, BARONE E, SICA A, et al. Inflammaging and osteoarthritis[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2023, 64(2): 222—238.

[2] HART H F, VAN MIDDELKOOP M, STEFANIK J J, et al. Obesity is related to incidence of patellofemoral osteoarthritis: The Cohort Hip and Cohort Knee (CHECK) study[J]. *Rheumatol Int*, 2020, 40(2): 227—232.

[3] MOLNAR V, MATIŠIĆ V, KODVANJ I, et al. Cytokines and chemokines involved in osteoarthritis pathogenesis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(17): 9208.

[4] 李琪,盛悦航,李柯,等. 1990 年—2035 年中国骨关节炎患病、疾病负担现状及趋势预测[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2024, 30(11): 1627—1632.

[5] MINNIG M C C, GOLIGHTLY Y M, NELSON A E. Epidemiology of osteoarthritis: Literature update 2022 – 2023[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2024, 36(2): 108—112.

[6] 韩升龙,孔令俊,李万潭,等. 中药单体及复方干预膝关节骨性关节炎疼痛相关信号通路研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2023, 29(10): 1490—1495.

[7] SUH J, LEE Y S. Mitochondria as secretory organelles and therapeutic cargos[J]. *Exp Mol Med*, 2024, 56(1): 66—85.

[8] HE Y, WU Z, XU L, et al. The role of SIRT3—mediated mitochondrial homeostasis in osteoarthritis[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(19): 3729—3743.

[9] CETRULLO S, D'ADAMO S, GUIDOTTI S, et al. Hydroxytyrosol prevents chondrocyte death under oxidative stress by inducing autophagy through sirtuin 1 – dependent and – independent mechanisms[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860(6): 1181—1191.

[10] LIU D, CAI Z J, YANG Y T, et al. Mitochondrial quality control in cartilage damage and osteoarthritis: New insights and potential therapeutic targets[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2022, 30(3): 395—405.

[11] YUNUS M H M, NORDIN A, KAMAL H. Pathophysiological perspective of osteoarthritis[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2020, 56(11): 614.

[12] GIORGINO R, ALBANO D, FUSCO S, et al. Knee osteoarthritis: Epidemiology, pathogenesis, and mesenchymal stem cells: What else is new? An update[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6405.

[13] NG J, LITTLE C B, WOODS S, et al. Stem cell – directed therapies for osteoarthritis: The promise and the practice[J]. *Stem Cells*, 2020, 38(4): 477—486.

[14] ZENG Z, ZHOU X, WANG Y, et al. Mitophagy – a new target of bone disease[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(10): 1420.

[15] CHU C T. Multiple pathways for mitophagy: A neurodegenerative conundrum for Parkinson's disease[J]. *Neurosci Lett*, 2019, 697: 66—71. 2019 – 04 – 01 [2025 – 03 – 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29626647/>.

[16] WANG T, ZHU Q, CAO B, et al. Cadmium induces mitophagy via AMP – activated protein kinases activation in a PINK1/Parkin – dependent manner in PC12 cells[J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(6): e12817.

[17] BADER V, WINKLHOFFER K F. PINK1 and Parkin: Team players in stress – induced mitophagy[J]. *Biol Chem*, 2020, 401(6—7): 891—899.

[18] XU K, HE Y, MOQBEL S A A, et al. SIRT3 ameliorates osteoarthritis via regulating chondrocyte autophagy and apoptosis through the PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 175: 351—360. 2021 – 02 – 06 [2025 – 03 – 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33556400/>.

[19] WANG F S, KUO C W, KO J Y, et al. Irisin mitigates oxidative stress, chondrocyte dysfunction and osteoarthritis development through regulating mitochondrial integrity and autophagy[J].

- Antioxidants (Basel)*, 2020, 9(9): 810.
- [20] ANSARI M Y, KHAN N M, AHMA D I, *et al.* Parkin clearance of dysfunctional mitochondria regulates ROS levels and increases survival of human chondrocytes[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2018, 26(8): 1087—1097.
- [21] SHIN H J, PARK H, SHIN N, *et al.* Pink1 - mediated chondrocytic mitophagy contributes to cartilage degeneration in osteoarthritis[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(11): 1849.
- [22] WANG G, ZHANG X, XU J, *et al.* The role of mitochondrial autophagy in osteoarthritis[J]. *iScience*, 2024, 27(9): 110741.
- [23] 康俊峰,姜众会,揭立士,等. 基于SIRT1介导的线粒体自噬研究膝痹宁Ⅱ联合脂肪干细胞外泌体保护软骨细胞的作用机制[J]. *时珍国医国药*, 2024, 35(10): 2316—2324.
- [24] 郑永智,陈飞飞,康乾,等. 薏苡汤含药血清调控线粒体自噬抑制白细胞介素1 β 诱导的关节软骨细胞损伤[J]. *中国组织工程研究*, 2025, 29(14): 2882—2891.
- [25] 肖思奇,程森,王磊,等. 基于PINK1/Parkin线粒体自噬通路探讨骨痹方抗膝关节炎的机制研究[J]. *湖北中医药大学学报*, 2024, 26(4): 13—18.
- [26] YU X B, CHEN G Y, ZHOU L, *et al.* Chondroprotective effects of gubitong recipe *via* inhibiting excessive mitophagy of chondrocytes [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 8922021. 2022 - 08 - 01 [2025 - 03 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35958905/>.
- [27] 杨波. 人工虎骨粉通过 AMPK 对 PINK 1/Parkin 介导的线粒体自噬对膝骨关节炎软骨退变的研究[D]. 甘肃 兰州:甘肃中医药大学, 2024.
- [28] XIA X, LIU Y, LU Y, *et al.* Retuning mitochondrial apoptosis/mitophagy balance *via* SIRT3—energized and microenvironment - modulated hydrogel microspheres to impede osteoarthritis [J/OL]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 12(32): e2302475. 2023 - 09 - 22 [2025 - 03 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37696643/>.
- [29] 孔祥伟,李媛媛,吴微微,等. 线粒体自噬在钩吻素子调控骨关节炎中的作用机制研究[C]//中国畜牧兽医学兽医药理毒理学会. 中国畜牧兽医学兽医药理毒理学会第十三次全国会员代表大会暨第十七次学术研讨会论文集. 湖南农业大学动物医学院;畜禽保健湖南省工程研究中心;湖南省兽药工程技术研究中心, 2023: 1.
- [30] WEN L, CHAN B C, QIU M H, *et al.* Artemisinin and its derivatives as potential anticancer agents[J]. *Molecules*, 2024, 29(16): 3886.
- [31] LI J, JIANG M, YU Z, *et al.* Artemisinin relieves osteoarthritis by activating mitochondrial autophagy through reducing TNFSF11 expression and inhibiting PI3K/AKT/mTOR signaling in cartilage [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2022, 27(1): 62.
- [32] ZHAO J, LIANG G, ZHOU G, *et al.* Efficacy and safety of curcumin therapy for knee osteoarthritis: A Bayesian network Meta - analysis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 321: 117493. 2024 - 03 - 01 [2025 - 03 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38036015/>.
- [33] JIN Z, CHANG B, WEI Y, *et al.* Curcumin exerts chondroprotective effects against osteoarthritis by promoting AMPK/PINK1/Parkin - mediated mitophagy [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 151: 113092. 2022 - 03 - 10 [2025 - 03 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35550528/>.
- [34] LIU J, ZHOU H, CHEN J, *et al.* Baicalin ameliorates cartilage injury in rats with osteoarthritis *via* modulating miR - 766 - 3p/AIFM1 axis[J]. *Physiol Res*, 2024, 73(4): 633—642.
- [35] HE J. Baicalin mitigated IL - 1 β - induced osteoarthritis chondrocytes damage through activating mitophagy[J]. *Chem Biol Drug Des*, 2023, 101(6): 1322—1334.
- [36] GONG Y, LI H X, GUO R H, *et al.* Anti—allergic inflammatory components from the leaves of piper crocatum Ruiz & Pav [J]. *Biol Pharm Bull*, 2021, 44(2): 245—250.
- [37] JIE L, SHI X, KANG J, *et al.* Protocatechuic aldehyde attenuates chondrocyte senescence via the regulation of PTEN - induced kinase 1/Parkin - mediated mitochondrial autophagy [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2024, 38: 3946320241271724. 2024 - 08 - 08 [2025 - 03 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39116410/>.
- [38] ZHONG W, ZHANG Q. Atractylodin: An alkyne compound with anticancer potential [J]. *Am J Chin Med*, 2024, 52(6): 1729—1757.
- [39] 叶海东,刘宇,甄朋超. 苍术素调节 PINK1/Parkin 信号通路对膝关节炎大鼠线粒体自噬的影响[J]. *微循环学杂志*, 2023, 33(4): 13—20.
- [40] 廖太阳,李晓辰,杨楠,等. 白芍总苷经活性氧—线粒体途径改善骨关节炎软骨细胞自噬性死亡[J]. *医学研究与战创伤救治*, 2023, 36(4): 337—342.
- [41] XING L, CHEN X, GUO C, *et al.* Electroacupuncture exerts chondroprotective effect in knee osteoarthritis of rabbits through the mitophagy pathway [J]. *J Pain Res*, 2023, 16: 2871—2882. 2023 - 08 - 21 [2025 - 03 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37638205/>.
- [42] 余泽宇,夏帅,卢曼,等. 针刀对膝关节骨关节炎兔软骨 PINK1/Parkin 通路介导的线粒体自噬的影响[J]. *针刺研究*, 2023, 48(9): 898—905.
- [43] DURÁN - SOTUELA A, FERNANDEZ - MORENO M, SUÁREZ - ULLOA V, *et al.* A Meta - analysis and a functional study support the influence of mtDNA variant m.16519C on the risk of rapid progression of knee osteoarthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2023, 82(7): 974—984. (收稿日期 2025 - 03 - 02)