

中药干预 mTOR 信号通路治疗骨性关节炎的研究现状

Research status of traditional Chinese medicine intervention in mTOR signaling pathway in the treatment of osteoarthritis

杨昊飞¹, 李金生¹, 张旭升¹,
史振华¹, 朱旭东¹, 张循儒¹,
柳海平²

(1. 甘肃中医药大学 中医临床学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省中医院 关节骨一科, 甘肃 兰州 730050)

YANG Hao-fei¹, LI Jin-sheng¹,
ZHANG Xu-sheng¹, SHI Zhen-hua¹,
ZHU Xu-dong¹, ZHANG Xun-ru¹,
LIU Hai-ping²

(1. Clinical College of Traditional Chinese Medicine, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, Gansu Province, China; 2. Department of Joint and Orthopedics I, 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); 甘肃省自然科学基金资助项目(22JR11RA197)

作者简介: 杨昊飞(1996-), 男, 硕士研究生, 主要从事中医药防治骨伤科疾病的相关研究

通信作者: 柳海平, 主任医师, 硕士生导师
MP: 15002591613
E-mail: lhp5152@163.com

摘要: 骨性关节炎(OA)为临床常见的慢性退行性疾病, 病程长预后差, 给社会和家庭带来沉重负担。软骨细胞凋亡是OA软骨退变的典型病理表现, 细胞自噬受应激源诱导后激活溶酶体降解途径, 降解并清除内部老化受损的细胞器及蛋白聚集体, 从而维持自身稳态。哺乳动物西罗莫司靶蛋白(mTOR)相关信号通路是自噬的重要调控途径, mTOR信号通路参与OA软骨细胞凋亡和自噬等生理病理进程, 是目前国内外研究OA的重要靶点之一。本文基于近年相关文献, 总结了mTOR在OA发展中的具体作用及中药调节mTOR信号通路防治OA的作用机制。

关键词: 磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/西罗莫司机制靶点; 西罗莫司机制靶点复合物1; 腺苷酸活化蛋白激酶; 中药; 自噬

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.11.024

中图分类号: R28 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-6821(2025)11-1634-07

Abstract: Osteoarthritis (OA) is a prevalent chronic degenerative condition in clinical settings, marked by a prolonged disease course and unfavorable prognosis. It imposes a substantial burden on both society and affected families. Chondrocyte apoptosis is a typical pathological manifestation of OA cartilage degeneration, and autophagy is a biological process in which cells are induced by various stressors to activate the lysosomal degradation pathway, selectively degrade and remove the organelles and protein aggregates damaged by internal aging, so as to maintain their own homeostasis. The mammalian target of rapamycin (mTOR)-related signaling pathway is an important regulatory pathway for autophagy. The mTOR signaling pathway is involved in the physiological and pathological processes such as apoptosis and autophagy of OA chondrocytes, and is one of the important targets for the study of OA at home and abroad. Based on the relevant literature in recent years, this paper summarizes the specific role of mTOR in the development of OA and the mechanism of action of traditional Chinese medicine in regulating the mTOR signaling pathway in the prevention and treatment of OA.

Key words: phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B/mechanistic target of rapamycin; mechanistic target of rapamycin complex 1; adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase; traditional Chinese medicine; autophagy

骨性关节炎(osteoarthritis, OA)是一种临床常见的慢性退行性疾

病。据报道,2019年,中国的OA流行病例数量最多(1.3281亿)^[1]。OA在疾病进展过程中,关节都经历结构、功能和代谢变化,涉及关节软骨变性、滑膜炎和软骨下骨损伤等^[2]。软骨下骨硬化可能是导致OA的主要原因之一,与成骨细胞和破骨细胞失调相关的异常骨重塑在骨关节炎的发生和发展中起着关键作用^[3]。研究表明,细胞自噬在OA的早期促进细胞存活,在末期促进细胞死亡,从而发挥着双向调节作用^[4]。哺乳动物西罗莫司靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)相关激酶家族的成员,可调节多种细胞功能,如细胞的生长、存活、自噬、蛋白质转录和合成等^[5]。自噬经典核心途径磷脂酰肌醇3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)-蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)-西罗莫司靶点(mammalian target of rapamycin, mTOR)通路的激活已被证实与OA发生机制密切相关,涉及细胞增殖、侵袭与转移等过程,逐渐成为OA辅助治疗的研究热点。本文基于近年相关文献,总结了mTOR在OA发展中的具体作用及中药调节mTOR信号通路防治OA的作用机制。

1 mTOR 信号通路

mTOR是一种与PI3K家族相关的丝氨酸/苏氨酸激酶,在细胞生长、代谢和能量稳态的调节中发挥作用,mTOR控制蛋白质合成、自噬和各种细胞过程^[6]。mTOR的机制靶标是mTORC1和mTORC2的丝氨酸/苏氨酸激酶催化亚基,其充当免疫细胞代谢状态的传感器。mTOR是协调细胞和生物体反应(如细胞生长、增殖、凋亡和代谢)的主要信号转导枢纽,mTOR信号转导失调发生在许多人类疾病中^[7]。

OA的发生与软骨细胞肥大、炎症过程和软骨细胞死亡有关,软骨细胞在调节软骨和细胞外基质稳态中负责细胞外基质的生化合成和分泌^[8]。自噬是一种细胞降解系统,可调节能量代谢,降解受损蛋白质,维持体内平衡,具有恢复受损软骨细胞的功能,通过保护关节软骨来缓解OA的进展^[9]。mTOR蛋白在OA软骨中高度表达,而mTOR的软骨特异性缺失可增强自噬并防止软骨细胞死亡,因此,通过抑制mTOR信号的转导可以激活自噬来保护软骨细胞。骨髓间充质干细胞(bone marrow derived mesenchymal stem cell, BMSC)存在于各种组织中,BMSC广泛用于临床研究,可向软骨细胞分化,具有多向分化潜能及促进组织器官修复等特点^[10],有效缓解OA的进展。自噬在BMSC衍生细胞(包括软骨细胞、成骨细胞、骨细胞

等)的稳态中起着必要的作用,自噬导致BMSC向成骨细胞分化的潜力下降^[11],抑制自噬会导致骨代谢减慢,而骨组织衰老加快,在BMSC分化再生中发挥着不可或缺的作用,证明自噬参与OA发生发展中软骨细胞的代谢,防治OA的发展。

1.1 PI3K/Akt/mTOR 信号通路 与 OA 的关系

PI3K/Akt/mTOR信号通路参与OA中软骨细胞、滑膜组织和软骨下骨的调节,以及其他信号通路的相互作用^[12]。受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)和G蛋白偶联受体(G-protein-coupled receptors, GPCR)激活PI3K的下游效应子Akt和mTORC1。PI3K/Akt/mTOR信号通路的激活导致炎症信号的释放并损害自噬过程,从而加剧OA的进展^[13]。研究发现,信号素5A可激活PI3K/Akt/mTOR信号通路促进滑膜成纤维细胞的激活,当加入抑制药时,显著抑制信号通路及其下游分子的激活受体^[14];通过激活PI3K/Akt/mTOR信号通路的传导来减少铁死亡的发生从而缓解OA的发展。白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)可以通过抑制软骨细胞自噬部分促进软骨细胞凋亡,通过抑制IL-1 β 介导的PI3K/Akt/mTOR通路可降低软骨细胞自噬的抑制和软骨细胞凋亡的激活^[15]。

1.2 腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)/mTOR 信号通路 与 OA 的关系

目前,自噬是OA研究的一个重要方向,其中AMPK/mTOR信号通路介导的自噬在软骨稳态调节中起着重要作用。AMPK是参与软骨细胞代谢的关键分子,软骨细胞代谢通过沉默信息调节因子2同源物1(silent mating type information regulation 2 homolog 1, SIRT1)和mTOR等介质调节能量代谢;mTOR是自噬的主要抑制药之一,是AMPK下游的重要信号分子,AMPK磷酸化的增加会抑制mTOR的表达水平,从而增强自噬^[16]。研究发现,在OA小鼠中通过抑制mTOR信号转导,从而促进软骨细胞自噬^[17]。AMPK/mTOR信号通路是自噬相关信号通路,通过激活AMPK/mTOR信号通路来增强自噬和减少炎症反应发生,从而保护关节软骨。mTOR的软骨特异性缺失可激活软骨细胞中的自噬,从而抑制软骨细胞OA的进展;OA软骨中的自噬抑制和mTOR的缺失会延缓OA进展,AMPK是一种能量传感器和自噬的正调节因子,可通过激活AMPK抑制mTOR激活自噬的能力^[18]。以上研究证实AMPK的激活可以通过降低p-mTOR的水平来刺激自噬,AMPK可以负向调节

mTOR 的哺乳动物标靶,从而调控 AMPK/mTOR 信号通路诱导自噬来保护软骨细胞,进而防治 OA 的发展。

1.3 Akt/mTOR 信号通路与 OA 的关系

mTORC1 是 Akt 信号转导的主要下游效应分子,通过激活 Akt 可增强 Akt/mTOR 信号的传导,引起线粒体活化和活性氧(reactive oxygen species,ROS)的产生;过度活跃的 Akt/mTOR 通路会导致骨髓造血功能失调,导致软骨代谢减慢^[19]。此外,通过激活 Akt/mTOR 信号传导减轻软骨细胞活力和钙水平降低,同时降低了炎症因子、ROS 表达的分泌,并抑制了软骨细胞损伤激活了线粒体自噬,从而防治 OA 的进展。

2 中药干预 mTOR 相关信号通路防治 OA

2.1 PI3K/Akt/mTOR 信号通路

木蝴蝶苷 B 具有抗炎特性。LU 等^[20]研究发现,用 $160 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 木蝴蝶苷 B 下调了 IL-1 β 诱导的软骨细胞中关键蛋白 PI3K、p-Akt、mTOR 的磷酸化水平,经木蝴蝶苷 B 处理 24 h 后,IL-1 β 诱导的细胞质中聚集蛋白聚糖和胶原蛋白 II 的蛋白表达上调,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase-3, MMP-3)和血小板反应蛋白解整合素金属肽酶 5(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs-5, ADAMTS5)表达水平降低,逆转了 IL-1 β 诱导的促炎蛋白一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)、环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-6、IL-1 β 的表达水平,木蝴蝶苷 B 使软骨细胞促炎蛋白的表达水平降低,增强了线粒体自噬,促进了软骨相关成分的合成,抑制了软骨的降解及炎症产生,保护软骨防治 OA。上述研究表明,木蝴蝶苷 B 通过调节 PI3K/Akt/mTOR 信号通路抑制了软骨的降解及炎症产生,保护软骨防治 OA 发展。

青蒿素(artemisinin, AT)是一种从青蒿中提取的有效成分,具有抗炎和抗凋亡的作用。LI 等^[21]研究发现,AT 处理后显著上调了 OA 大鼠软骨细胞质自噬相关基因(Beclin-1)、微管相关蛋白 1 轻链 3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)的表达,还显著增加了 LC3-I 向 LC3-II 的转化,增加自噬体的数量。用不同浓度的 AT(5 、 10 和 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)处理显著抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路中 IL-1 β 相关底物(p-PI3K、p-Akt、p-mTOR)的磷酸化,并且 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AT 处理 4 h 后下降更显著($P < 0.001$),从而抑制了 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的激活,逆转了 IL-1 β 诱导的 OA 软骨细胞线粒体自

噬抑制,从而减轻软骨的降解和缺陷。表明 AT 防治 OA 是通过调控 PI3K/Akt/mTOR 信号通路来实现的,促进了软骨细胞自噬,加速衰老细胞的更新与骨细胞代谢。

黄连含有多种化学成分,主要包括生物碱、类黄酮,小檗碱显示出显著的抗炎作用,通过降低炎症因子水平,改善关节及其周围组织的炎症反应损伤有效治疗 OA。LI 等^[22]研究发现,黄连通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的激活,加快了线粒体自噬,防止了软骨的损伤。

姜黄素可促进多个细胞的自噬并减少细胞凋亡。HAN 等^[23]研究发现, $25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的姜黄素干预 OA 大鼠软骨细胞后 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 的表达显著下降, $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素对抗炎性细胞因子应激最适宜($P < 0.001$),而自噬相关蛋白(LC3、Beclin-1)的表达显著上调。3BDO 是 PI3K-Akt-mTOR 通路的激动药,姜黄素可以拮抗 3BDO 引起的 p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt 和 p-mTOR/mTOR 蛋白相对表达水平的上调;添加 $50 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 姜黄素后, TNF- α 诱导的细胞凋亡百分比降至 $(23.58 \pm 0.60)\%$,软骨细胞的凋亡率显著下降至 $(17.45 \pm 0.45)\%$ 。姜黄素通过降低 p-PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 的磷酸化程度来抑制 PI3K/Akt/mTOR 的信号转导,同时显著增加自噬体的数量来增强自噬。因此,姜黄素通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路来促进线粒体自噬从而抑制软骨细胞凋亡。

桑树苷 A(mulberry A, MA)具有抗炎、镇咳和利尿的特性,LU 等^[24]研究发现,将不同浓度(5 、 10 、 20 和 $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的 MA 作用于小鼠关节软骨细胞,浓度 $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ MA 促进 IL-1 β 诱导的软骨细胞的合成代谢、抑制分解代谢和炎症代谢效果更明显(均 $P < 0.05$),MA 在体外下调 IL-1 β 刺激的软骨细胞炎症蛋白诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)的表达对 OA 起抗炎作用。MA 逆转了 IL-1 β 引起的 OA 软骨细胞中 MMP13、ADAMTS4 和 ADAMTS5 的分解代谢蛋白表达,缓解了软骨细胞外基质的降解;同时上调软骨细胞中合成代谢相关基因聚集蛋白聚糖(Aggregan)、胶原蛋白(Collagen II)及聚集蛋白聚糖的蛋白相对表达水平,增加了软骨细胞合成代谢;MA 的给药减少了蛋白 p-PI3K、p-Akt 和 p-mTOR 的积累。此外,MA 增加了自噬的正调节因子(Atg3、Atg5、Atg7、Atg12、Beclin-1 和 LC3-II/I)的蛋白表达,降低了自噬负调节因子(p62),促进了细胞自噬保护关节软骨免于退化。这表明 MA

通过抑制 PI3K - Akt - mTOR 信号通路的激活来调节在 OA 发展中软骨降解、炎症反应和自噬。

淫羊藿苷 (icariin, ICA) 可以减少软骨破坏, 促进软骨细胞分化。CHEN 等^[25] 研究发现, 用不同浓度 (5、10、20、40、80 和 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 ICA 预处理人软骨细胞后, 显著抑制了 MMP-3 的过量产生并促进了胶原蛋白 II 的表达, 此外, ICA 可以减轻 IL-1 β 诱导的炎症, 从而促进胶原蛋白的形成; 用不同浓度 (10、20 和 40 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的 IL-1 β 处理软骨细胞存活率分别为 74.0%、54.2% 和 39.5%, 用 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ICA 处理细胞增加了细胞的存活力 ($P < 0.05$)。ICA 显著上调自噬相关蛋白 [LC3 II/I、B 细胞淋巴瘤-1 (B-cell leukemia/lymphoma 1, Bcl-1)] 的表达 (均 $P < 0.05$), 强烈诱导软骨细胞的自噬。同时, ICA 可以显著下调 p-PI3K、p-Akt1 和 p-mTOR 的水平, 通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的激活来促进自噬, 从而抑制 OA 软骨细胞的退化, 防治 OA 的发生。

光甘草苷具有抗细胞凋亡的特性。DAI 等^[26] 研究发现, 用光甘草苷处理人 OA 软骨细胞后, 细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 相关基因 II 型胶原 $\alpha 1$ 链、聚集蛋白聚糖、蛋白多糖 4 (protein polysaccharides 4, PRG4) 的蛋白表达水平上调; 观察到 p-mTOR 表达水平的降低, 以及自噬相关蛋白 (LC3 II/I、Beclin 1) 表达水平的上调, 这表明光甘草定可以通过调节 PI3K/Akt/mTOR 信号通路来增加人 OA 软骨细胞的自噬, 其显著降低了 OA 大鼠凋亡介导的软骨变性的影响, 表明其能有效缓解了软骨细胞凋亡。

三七皂苷 (Panax notoginseng saponin, PNS) 具有抗炎、抗氧化和抗衰老药理特性。ZHANG 等^[27] 研究发现, 不同浓度 (100 和 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的 PNS 对细胞存活率的影响, 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ PNS 显著抑制 OA 软骨细胞的衰老和凋亡 (均 $P < 0.05$), 在 PNS 处理的 OA 软骨细胞中, 自噬相关蛋白 (LC3 II/I、Bcl-1) 和抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达水平显著升高, 还可逆转 TNF- α 引起的 OA 软骨细胞中 p-PI3K/p-Akt/p-mTOR 的蛋白表达, 而降低 PI3K、Akt、mTOR 的磷酸化 ($P < 0.05$)。此外, PNS 在 OA 大鼠中显著抑制 PI3K - Akt - mTOR 信号通路的激活和胶原蛋白 II 的降解, 以及降低 MMP-3、MMP-13 在 OA 大鼠中的软骨表达, 从而减轻 OA 中的软骨破坏。表明 PNS 可通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路保护 OA 软骨细胞, 从而延缓关节软骨的降解, 上调自噬相关蛋白以增加自噬体的数量来激活自噬, 保护软骨细胞。

HE 等^[28] 研究发现, 10、20 和 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的黄

芩苷可通过上调自噬相关蛋白 (Bcl-2、Bcl-1、LC3-II/LC3-I), 下调 IL-1 β 诱导的 OA 大鼠软骨中 p-PI3K/PI3K、p-mTOR/mTOR 水平, 其中 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的黄芩苷效果更显著 (均 $P < 0.05$)。其通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路激活线粒体自噬, 维持软骨细胞稳态, 对 OA 软骨细胞起到保护作用。综上所述, 黄芩苷通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路, 激活 IL-1 β 诱导的软骨细胞中的线粒体自噬, 从而减少软骨细胞损伤。

2.2 AMPK/mTOR 信号通路

京尼平苷 (geniposide, GEN) 具有抗炎、抗氧化、抗骨质疏松和抗骨关节炎活性。HUANG 等^[29] 研究发现, 将各种浓度 (5、10、25、50 和 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 GEN 作用于人 OA 软骨细胞, GEN 可以逆转 IL-1 β 对软骨细胞活力的影响, 下调 p62 的表达, 上调自噬相关蛋白 (Bcl-1、LC3-II、LC3-I), 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 GEN 抑制 IL-1 β 的作用更突出 (均 $P < 0.05$); GEN 通过上调胶原蛋白 II、下调 MMP-13 的表达, 从而保护软骨细胞, GEN 通过激活自噬来保护 OA 软骨细胞; GEN 通过促进 p-mTOR、p62 的表达来激活 AMPK 的磷酸化, 以及上调 Bcl-1、LC3-II/I 和胶原蛋白 II 的表达。综上, GEN 通过激活 AMPK 表达刺激 mTOR 介导的 OA 软骨细胞自噬。

西奈素具有强大的抗炎活性, 还参与多种信号通路如核因子- κB (nuclear factor kappa-B, NF- κB)、Akt/mTOR、MAPKs 的信号传导^[30]。ZHOU 等^[31] 实验发现, 用不同浓度的 (10、20、30、40 和 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 西奈素处理 OA 小鼠软骨细胞, 发现软骨细胞中 p-AMPK 的表达显著增加, 而 p-mTOR 的表达降低; 经 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的西奈素处理增加自噬相关蛋白 Bcl-1 的表达和 LC3-II、LC3-I 的比率, 并在 24 h 达到峰值 ($P < 0.05$)。相反, p62 的表达逐渐降低, 抑制了自噬的激活。这些结果表明, 西奈素激活的自噬可能与 AMPK/mTOR 通路有关。此外, 西奈素处理显著逆转了聚集蛋白聚糖和胶原蛋白 II 表达的降低, 并下调 MMP-13 的表达, 表明西奈素具有保护软骨细胞中 ECM 降解的作用。西奈素通过激活 AMPK/mTOR 通路增强软骨细胞自噬来抑制软骨细胞凋亡和 ECM 降解防治 OA 的发生。

银杏内酯具有抗炎和抗氧化药理特性。MA 等^[32] 研究发现, 用不同浓度 (7.5、15.0、30.0、60.0 和 120.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的银杏内酯干预 IL-1 β 诱导的 iNOS 和 COX-2 炎症因子异常增加, 显著抑制 MMP-13 蛋白的表达, 用 10 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ IL-1 β 处理软

骨细胞 24 h 导致 iNOS 和 COX-2 炎症因子异常增加,60 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的银杏内酯干预对 iNOS 和 COX-2 的抑制作用最大(均 $P < 0.05$)。银杏内酯通过下调 iNOS、COX-2 和 MMP-13 的表达来保护 ATDC5 软骨细胞免受 IL-1 β 诱导的炎症;同时可干预 ATDC5 软骨细胞中 p-mTOR、mTOR、LC3-II 和 p62 的表达,其中 p-mTOR 和 p62 的表达降低,而自噬相关蛋白 LC3-II 的表达增加(均 $P < 0.05$),上述结果表明银杏内酯可以促进软骨细胞自噬。p-mTOR 的表达被银杏内酯抑制,银杏内酯通过 AMPK/mTOR 通路减弱创伤后骨性关节炎(post-traumatic ostarthritis, PTOA)大鼠的软骨 iNOS 和 COX-2 水平。银杏内酯干预后,大鼠血清中 II 型胶原降解产物 II 型胶原 C 末端肽、II 型胶原 C 末端胶原肽和软骨寡聚基质蛋白的水平均显著降低(均 $P < 0.05$)。银杏内酯通过 AMPK/mTOR 通路抑制软骨中 iNOS 和 COX-2 蛋白的表达,并降低血清中 ECM 的降解水平防治 OA 的发生。

2.3 Akt/mTOR 信号通路

姜黄素具有抗炎和抗凋亡的作用。YAO 等^[33]研究发现,用 200 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 400 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的姜黄素处理 OA 大鼠后,大鼠软骨中 miR-34a 水平降低,Akt/mTOR 信号传导减少,自噬增加。接受姜黄素治疗的大鼠自噬相关蛋白 Beclin-1 和 LC3B 的表达均显著上调(均 $P < 0.01$),高剂量的姜黄素处理后 LC3B 表达显著高于低剂量的姜黄素处理($P < 0.05$),此外姜黄素抑制 miR-34a 的水平,降低 p62、p-Akt 和 p-mTOR 的蛋白表达来抑制 Akt/mTOR 的信号传导(均 $P < 0.01$)。姜黄素干预 miR-34a 诱导的大鼠软骨中 MMP-2 和 MMP-9 的表达,减弱了大鼠关节软骨中 MMP-2 和 MMP-9 的表达增加,抑制软骨细胞凋亡。因此,姜黄素通过干预软骨细胞中 Akt/mTOR 的信号传导及自噬来防治 OA 的发生发展。

氧化苦参碱(oxymatrine, OMT)具有抗炎、调节氧化应激的特性,有助于调节 OA 的发病机制。研究表明,OMT 通过调节软骨细胞和抑制破骨细胞生成在 OA 中发挥保护作用,此外,OMT 还通过抑制 NF- κ B 信号传导在软骨细胞中发挥保护作用^[34],表明 OMT 对 OA 具有潜在的治疗作用。Akt/mTOR 通路是一种众所周知的自噬相关信号通路,激活后会减弱自噬,LU 等^[35]实验发现,用不同浓度(0.25、0.50 和 1.00 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)的 OMT 预处理 IL-1 β 诱导大鼠的软骨细胞,IL-1 β 诱导的细胞凋亡的细胞百分比分别从 (46.23 $\pm$ 0.57)% 显著降低到 (39.53 $\pm$ 0.06)%、

(19.03 $\pm$ 0.31)% 和 (1.23 $\pm$ 0.06)%,减轻了软骨细胞受到的损伤,降低了 ROS 的产生,不同浓度组别分别下降了 48.4%、39.6% 和 34.6% ($P < 0.05$)。胶原蛋白 II 是软骨基质的关键成分,经常在受 OA 影响的软骨中发生降解和减少,OMT 增加了胶原蛋白 II 的蛋白水平并降低了 MMP-13 的蛋白水平。同时,Akt/mTOR 信号通路与软骨细胞的细胞凋亡和自噬有着错综复杂的联系,OMT 抑制了 IL-1 β 导致的 p-Akt/Akt 和 p-mTOR/mTOR 比率均显著增加(均 $P < 0.05$)。此外,IL-1 β 降低了自噬相关蛋白 LC3 的比例,并增加了 p62 的水平,而 OMT 则逆转了 LC3 的蛋白表达。这些研究表明,OMT 通过降低 Akt/mTOR 信号通路并增加 IL-1 β 处理的软骨细胞的自噬,通过激活自噬保护软骨细胞从而对 OA 起保护作用。

野漆树苷(rhoifolin, ROF)具有抗氧化和抗炎特性。已有的研究表明,ROF 通过抑制丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPK)和核因子- κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)信号通路转导来减弱破骨细胞刺激的骨溶解^[36]。YAN 等^[37]研究发现,用不同浓度(0、5、10、20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)的 ROF 处理 IL-1 β 诱导的大鼠软骨细胞可以有效下调炎症性细胞因子(iNOS、COX-2)的表达,ROF 可显著诱导 MMP-13 的下调以及胶原蛋白 II 的上调。上述结果表明,ROF 对 IL-1 β 诱导的大鼠软骨细胞炎症反应和软骨降解有保护作用。自噬在 OA 发展中起重要作用,IL-1 β 处理显著降低大鼠软骨细胞中自噬相关蛋白 Beclin-1 的表达以及 LC3 II/LC3 I 的比值,而 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ROF 给药可以显著逆转这种变化($P < 0.05$),用 ROF 处理后,在软骨细胞中观察到更多的自噬体和自噬溶酶体,ROF 处理可显著缓解 IL-1 β 诱导的大鼠软骨细胞自噬体减少。Akt/mTOR 通路与 OA 发展中的炎症反应和自噬高度相关,然后单独用 IL-1 β 或 ROF 处理,ROF 可以显著阻断 Akt 的磷酸化,减低 IL-1 β 在软骨细胞中诱导的 mTOR 水平($P < 0.05$)。上述结果表明,ROF 抑制了 IL-1 β 诱导的 Akt/mTOR 信号通路的激活,保护软骨细胞,激活自噬,防治 OA 的发生。

异炔茶碱可以抑制炎症因子的释放。JIANG 等^[38]研究发现,OA 大鼠软骨细胞中自噬相关蛋白[自噬相关基因 5(autophagy-related gene 5, ATG5)、ATG7、Bcl-1、LC3]的 mRNA 水平显著降低,此外,与正常细胞相比,OA 细胞中基质相关 MMP-3 和 MMP-13 的 mRNA 表达显著上调。经不同浓度(5、

10、20、25、50、100 和 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的异炔茶碱处理后, *MMP-3*、*MMP-13* mRNA 水平下调, 抑制了 *MMP-3*、*MMP-13* 的蛋白表达, 并促进了自噬相关蛋白 *ATG5*、*ATG7*、*Beclin-1*、*LC3* 蛋白的表达 (均 $P < 0.05$)。异炔茶碱可以抑制磷酸化 *Akt*、*mTOR* 的表达, 激活 *Akt*/*mTOR* 通路因子的加入从根本上下调自噬蛋白 *ATG5*、*Beclin-1* 的蛋白表达, 经 50 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 异炔茶碱作用后 *Akt*、*mTOR* 的表达显著下降, 且自噬相关蛋白 (*ATG5*、*ATG7*、*Beclin-1*、*LC3*) 的水平均显著上升 (均 $P < 0.05$)。上述结果表明, 异炔茶碱通过抑制大鼠 OA 软骨细胞中的 *Akt*/*mTOR* 信号传导来激活自噬从而缓解 OA。

3 讨论

mTOR 相关信号通路在调控炎症因子、激活细胞自噬、促进软骨形成、改善骨代谢和骨微结构、调节骨稳态中处于关键环节和重要地位, 调控 *mTOR* 相关信号通路可显著改善 OA 病理改变。目前对于 OA 的治疗如临床上常用的非甾体类消炎药如依托考昔片、双氯芬酸钠、双醋瑞因等, 虽然可以抑制炎症因子的产生及缓解疼痛症状, 但有研究指出了这些药物有包括胃肠道反应、肾毒性、低钙血症、骨折愈合缓慢等众多药物不良反应。中医药作为祖国医学的重要组成部分, 历经千年临床实践, 具有疗效稳定、药物不良反应发生率较低、作用靶多点的显著优势, 因此用中医药治疗 OA 等慢性疾病前景广阔。

现阶段, 众多学者以中医学“辨证论治、整体观念”理论为指导, 充分利用现代化研究手段 (蛋白组学、细胞组学、代谢组学等新兴技术) 对实验研究进行了大量探索, 证实了中医药调控 *mTOR* 相关信号通路防治 OA 的有效性及作用机制。但是, 关于中医药防治 OA 的现代化研究也存在一定不足, 当前缺乏对经典方剂的研究及其对 OA 信号通路、基因表达等方面调控机制的研究。此外, 依据中药临床有效性, 基于中药活性成分进行新药研制是我国中药研究的优势和特色, 但当下的研究仅局限于相关动物实验数据, 存在未明确阐述的药效物质作用靶点和机制, 此类问题极大限制了中药新药的研制, 进而导致了目前我国中药药物研发原创性不足、临床转化性创新性成果缺乏, 缺乏在临床上的应用。因此, 未来应继续充分利用现代化研究手段, 进一步明确中医药防治 OA 作用机制, 推动中医药大范围使用, 并借此研制出疗效更好、机制更明确的中药类药物。

参考文献:

- [1] LONG H, LIU Q, YIN H, et al. Prevalence trends of site-specific osteoarthritis from 1990 to 2019: Findings from the global burden of disease study 2019 [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2022, 74 (7): 1172—1183.
- [2] ABRAMOFF B, CALDERA F E. Osteoarthritis: Pathology, diagnosis, and treatment options [J]. *Med Clin North Am*, 2020, 104(2): 293—311.
- [3] HAN X, CUI J, CHU L, et al. Abnormal subchondral trabecular bone remodeling in knee osteoarthritis under the influence of knee alignment [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2022, 30(1): 100—109.
- [4] CASTROGIOVANNI P, RAVALLI S, MUSUMECI G. Apoptosis and autophagy in the pathogenesis of osteoarthritis [J]. *J Invest Surg*, 2020, 33(9): 874—875.
- [5] ABOU-EL-NAGA I F. Review: Schistosoma mansoni phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K)/Akt/mechanistic target of rapamycin (mTOR) signaling pathway [J/OL]. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2021, 256: 110623. 2021-06-10 [2024-11-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34119651/>.
- [6] KAPNICK S M, MARTIN C A, JEWELL C M. Engineering metabolism to modulate immunity [J/OL]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2024, 204: 115122. 2023-11-05 [2024-11-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37935318/>.
- [7] ABOUDEHEN K. Regulation of mTOR signaling by long non-coding RNA [J/OL]. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech*, 2020, 1863(4): 194449. 2019-11-18 [2024-11-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31751821/>.
- [8] WANG B W, JIANG Y, YAO Z L, et al. Aucubin protects chondrocytes against IL-1 β -induced apoptosis in vitro and inhibits osteoarthritis in mice model [J/OL]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 3529—3538. 2019-10-09 [2024-11-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31631977/>.
- [9] YLA-ANTTILA P. Autophagy receptors as viral targets [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2021, 26(1): 29.
- [10] FENG K, XIE X, YUAN J, et al. Reversing the surface charge of MSC-derived small extracellular vesicles by ϵ PL-PEG-DSPE for enhanced osteoarthritis treatment [J/OL]. *J Extracell Vesicles*, 2021, 10(13): e12160. 2021-11-01 [2024-11-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34724347/>.
- [11] LI H, LI D, MA Z, et al. Defective autophagy in osteoblasts induces endoplasmic reticulum stress and causes remarkable bone loss [J]. *Autophagy*, 2018, 14(10): 1726—1741.
- [12] SUN K, LUO J, GUO J, et al. The PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in osteoarthritis: A narrative review [J/OL]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2020, 28(4): e400—e409. 2020-02-18 [2024-11-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32081707/>.
- [13] TANG Y, LI Y, XIN D, et al. Icaritin alleviates osteoarthritis by regulating autophagy of chondrocytes by mediating PI3K/Akt/mTOR signaling [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 2984—2999.
- [14] CHENG Q, CHEN M, LIU M, et al. Semaphorin 5A suppresses ferroptosis through activation of PI3K-Akt-mTOR signaling in rheumatoid arthritis [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(7): 608.
- [15] CHEN W, ZHANG H. Elucidating the mechanism of IL-1 β -mediated piezo1 expression regulation of chondrocyte autophagy

- and apoptosis *via* the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J/OL]. *Tissue Cell*, 2024, 86; 102291. 2023 - 12 - 19 [2024 - 11 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38134572/>.
- [16] MEI R, LOU P, YOU G, *et al.* 17 β - estradiol induces mitophagy upregulation to protect chondrocytes *via* the SIRT1 - mediated AMPK/mTOR signaling pathway [J/OL]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2021, 11; 615250. 2021 - 02 - 03 [2024 - 11 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33613450/>.
- [17] GE Y, ZHOU S, LI Y, *et al.* Estrogen prevents articular cartilage destruction in a mouse model of AMPK deficiency *via* ERK - mTOR pathway [J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(14); 336.
- [18] LIU L, BAI H, JIAO G, *et al.* CF101 alleviates OA progression and inhibits the inflammatory process *via* the AMP/ATP/AMPK/mTOR axis [J/OL]. *Bone*, 2022, 155; 116264. 2021 - 11 - 23 [2024 - 11 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34826631/>.
- [19] FUJINO T, GOYAMA S, SUGIURA Y, *et al.* Mutant ASXL1 induces age - related expansion of phenotypic hematopoietic stem cells through activation of Akt/mTOR pathway [J]. *Nat Commun*, 2021, 12 (1); 1826.
- [20] LU R, HE Z, ZHANG W, *et al.* Oroxin B alleviates osteoarthritis through anti - inflammation and inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and enhancement of autophagy [J/OL]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13; 1060721. 2022 - 12 - 01 [2024 - 11 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36531454/>.
- [21] 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.
- [22] LI M, TIAN F, GUO J, *et al.* Therapeutic potential of Coptis chinensis for arthritis with underlying mechanisms [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2023, 14; 1243820. 2023 - 08 - 11 [2024 - 11 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37637408/>.
- [23] HAN G, ZHANG Y, LI H. The combination treatment of curcumin and probucol protects chondrocytes from TNF - α induced inflammation by enhancing autophagy and reducing apoptosis *via* the PI3K - Akt - mTOR pathway [J/OL]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021; 55 58066. 2021 - 06 - 24 [2024 - 11 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34257809/>.
- [24] LU R, WEI Z, WANG Z, *et al.* Mulberroside: A alleviates osteoarthritis *via* restoring impaired autophagy and suppressing MAPK/NF - κ B/PI3K - Akt - mTOR signaling pathways [J/OL]. *iScience*, 2023, 26(2); 105936.
- [25] CHEN Y, PAN X, ZHAO J, *et al.* Icaritin alleviates osteoarthritis through PI3K/Akt/mTOR /ULK1 signaling pathway [J]. *Eur J Med Res*, 2022, 27(1); 204.
- [26] DAI J, ZHANG Y, CHEN D, *et al.* Glabridin inhibits osteoarthritis development by protecting chondrocytes against oxidative stress, apoptosis and promoting mTOR mediated autophagy [J/OL]. *Life Sci*, 2021, 268; 118992. 2021 - 03 - 01 [2024 - 11 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33417956/>.
- [27] ZHANG Y, CAI W, HAN G, *et al.* Panax notoginseng saponins prevent senescence and inhibit apoptosis by regulating the PI3K - Akt - mTOR pathway in osteoarthritic chondrocytes [J/OL]. *Int J Mol Med*, 2020, 45 (4); e1225—e1236. 2020 - 02 - 06 [2024 - 11 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32124939/>.
- [28] HE J, HE J. Baicalin mitigated IL - 1 β - Induced osteoarthritis chondrocytes damage through activating mitophagy [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2023, 101(6); 1322—1334.
- [29] HUANG J, CHEN Z, WU Z, *et al.* Geniposide stimulates autophagy by activating the GLP - 1R/AMPK/mTOR signaling in osteoarthritis chondrocytes [J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 167; 115595. 2023 - 09 - 26 [2024 - 11 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37769389/>.
- [30] LI J, JIE X, LIANG X, *et al.* Sinensetin suppresses influenza a virus - triggered inflammation through inhibition of NF - κ B and MAPKs signalings [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2020, 20(1); 135.
- [31] ZHOU W, SHI Y, WANG H, *et al.* Sinensetin reduces osteoarthritis pathology in the tert - butyl hydroperoxide - treated chondrocytes and the destabilization of the medial meniscus model mice *via* the AMPK/mTOR signaling pathway [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2021, 12; 713491. 2021 - 07 - 16 [2024 - 11 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34335275/>.
- [32] MA T, LV L, YU Y, *et al.* Ilobalide exerts anti - inflammatory effects on chondrocytes through the AMPK/SIRT1/mTOR pathway to attenuate ACLT - induced post - traumatic osteoarthritis in rats [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2022, 13; 783506. 2022 - 02 - 23 [2024 - 11 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35281931/>.
- [33] YAO J, LIU X, SU Y, *et al.* Curcumin - alleviated osteoarthritic progression in rats fed a high - fat diet by inhibiting apoptosis and activating autophagy *via* modulation of microRNA - 34a [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14; 2317—2331.
- [34] MOHETAER D, CAO L, WANG Y. Oxymatrine protects chondrocytes against IL - 1 β - triggered apoptosis *in vitro* and inhibits osteoarthritis in mice model [J/OL]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022; 2745946. 2022 - 09 - 27 [2024 - 11 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36204118/>.
- [35] LU J, BIAN J, WANG Y, *et al.* Oxymatrine protects articular chondrocytes from IL - 1 β - induced damage through autophagy activation *via* Akt/mTOR signaling pathway inhibition [J]. *J Orthop Surg Res*, 2024, 19(1); 178.
- [36] LIAI S, SONG F, FENG W, *et al.* Rhoifolin ameliorates titanium particle - stimulated osteolysis and attenuates osteoclastogenesis *via* RANKL - induced NF - κ B and MAPK pathways [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(10); 17600—17611.
- [37] YAN J, NI B, SHENG G, *et al.* Rhoifolin ameliorates osteoarthritis *via* regulating autophagy [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2021, 12; 661072. 2021 - 05 - 28 [2024 - 11 - 01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34122080/>.
- [38] JIANG J, LI J, XIONG C, *et al.* Isorhynchophylline alleviates cartilage degeneration in osteoarthritis by activating autophagy of chondrocytes [J]. *J Orthop Surg Res*, 2023, 18(1); 154.