

· 论著 ·

麻黄碱调控 AMPK/NF- κ B 信号通路改善大鼠膝骨关节炎的实验研究

王俊杰¹ 郭中华^{1*} 史栋梁¹ 丁琳琳²

1. 河南省中医院骨病一科, 河南 郑州 450053

2. 金水区总医院中医科, 河南 郑州 450008

中图分类号: R684.3 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2023)10-1415-06

摘要: **目的** 探讨麻黄碱(Ephedrine)调控腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)/核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路对大鼠膝骨关节炎(KOA)的影响。**方法** 建立 KOA 大鼠模型,将大鼠分为 Sham 组、KOA 组、Ephedrine 组(40.0 mg/kg)、Ephedrine(40.0 mg/kg)+Compound C 组(0.2 mg/kg),药物分组干预后,分别检测大鼠膝关节宽度与疼痛阈值,番红 O-固绿染色观察软骨组织病理变化并进行 Mankin 评分,ELISA 法检测关节液 TNF- α 、IL-1 β 、COX-2 水平,免疫组化检测软骨组织 IL-1 β 、MMP-13 蛋白表达,Western blot 检测 AMPK/NF- κ B 通路相关蛋白水平。**结果** 与 Sham 组比较,KOA 组软骨组织损伤严重,膝关节宽度、Mankin 评分、关节液 TNF- α 、IL-1 β 、COX-2 水平及软骨组织 IL-1 β 、MMP-13、p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 水平显著升高,疼痛阈值及软骨组织 p-AMPK/AMPK 水平显著降低($P<0.05$);与 KOA 组比较,Ephedrine 组软骨组织病理损伤减轻,膝关节宽度、Mankin 评分、关节液 TNF- α 、IL-1 β 、COX-2 水平及软骨组织 IL-1 β 、MMP-13、p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 水平显著降低,疼痛阈值及软骨组织 p-AMPK/AMPK 水平显著升高($P<0.05$);与 Ephedrine 组比较,Ephedrine+Compound C 组大鼠软骨组织损伤加重,膝关节宽度、Mankin 评分、关节液 TNF- α 、IL-1 β 、COX-2 水平及软骨组织 IL-1 β 、MMP-13、p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 水平显著升高,疼痛阈值及软骨组织 p-AMPK/AMPK 水平显著降低($P<0.05$)。**结论** 麻黄碱通过激活 AMPK 通路抑制 NF- κ B 信号通路,抑制炎症反应,改善 KOA 大鼠软骨损伤。

关键词: 麻黄碱;膝骨关节炎;AMPK/NF- κ B 信号通路

Experimental study on ephedrine ameliorates knee osteoarthritis in rats by regulating AMPK/NF- κ B signaling pathway

WANG Junjie¹, GUO Zhonghua^{1*}, SHI Dongliang¹, DING Linlin²

1.Department of Osteopathy, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450053, China

2.Department of Traditional Chinese Medicine, Jinshui District General Hospital, Zhengzhou 450008, China

* Corresponding author: GUO Zhonghua, Email: 1048741260@qq.com

Abstract: Objective To investigate the impact of ephedrine on knee osteoarthritis (KOA) in rats by regulating AMPK/NF- κ B signaling pathway. **Methods** KOA rat models were established and grouped into Sham group, KOA group, Ephedrine group (40.0 mg/kg), and Ephedrine group (40.0 mg/kg)+Compound C group (0.2 mg/kg). After drug grouping intervention, the knee joint width and pain threshold of rats were measured respectively, the pathological changes of cartilage tissue were observed with safranin O-solid green staining and Mankin score was performed, the levels of TNF- α , IL-1 β and COX-2 in synovial fluid were detected by ELISA, the expression of IL-1 β and MMP-13 proteins in cartilage tissue was detected by immunohistochemistry, Western blot was applied to detect the level of AMPK/NF- κ B pathway related proteins. **Results** Compared with Sham group, the cartilage tissue of KOA group was seriously damaged, the knee joint width, Mankin score, levels of TNF- α , IL-1 β , COX-2 in joint fluid, and levels of IL-1 β , MMP-13, and p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 in cartilage tissue were significantly higher, and the pain threshold and the level of p-AMPK/AMPK in cartilage tissue were significantly lower ($P<0.05$); compared with KOA group, the pathological damage of cartilage tissue in Ephedrine group was reduced, the knee joint width, Mankin score, levels of TNF- α , IL-

1 β , COX-2 in joint fluid, and levels of IL-1 β , MMP-13, and p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 in cartilage tissue were significantly lower, and the pain threshold and the level of p-AMPK/AMPK in cartilage tissue were significantly higher ($P<0.05$); compared with the Ephedrine group, the injury of cartilage tissue in the Ephedrine+Compound C group was aggravated, the knee joint width, Mankin score, levels of TNF- α , IL-1 β , COX-2 in joint fluid, and levels of IL-1 β , MMP-13, and p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 in cartilage tissue were significantly higher, and the pain threshold and the level of p-AMPK/AMPK in cartilage tissue were significantly lower ($P<0.05$). **Conclusion** Ephedrine can inhibit NF- κ B signal pathway, inhibit inflammatory reaction and improve cartilage injury in KOA rats by activating AMPK pathway.

Key words: ephedrine; knee osteoarthritis; AMPK/NF- κ B signal pathway

膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是一种慢性炎症性关节退行性疾病,多发于中老年人,临床主要表现为关节疼痛、关节畸形或功能障碍,具有较高的致残率,严重影响患者生活质量^[1]。KOA 病理机制复杂,与炎症反应、创伤、自身免疫反应等多种因素有关,其病理变化最初发生于关节软骨组织,炎症因子刺激可诱导骨细胞外基质降解,破坏关节软骨,加重 KOA 的进展,抑制膝关节炎症反应,可延缓关节病理进展^[2-3]。腺苷酸激活蛋白激酶(AMPK)可维持细胞内能量平衡,通过调节下游靶分子如核转录因子- κ B(NF- κ B)的转录,介导炎症损伤,与多种炎症性疾病密切相关,在关节炎疾病中,AMPK 活性下降时可导致关节软骨的退行性变^[4],激活 AMPK 可提高软骨细胞的抗应激能力,修复软骨细胞线粒体功能,延缓实验性骨关节炎的发生发展^[5]。麻黄碱(Ephedrine)是从麻黄属植物中提取的生物碱,具有扩展支气管、升高血压的作用,最新研究显示,麻黄碱具有调节免疫炎症反应的作用,可降低促炎细胞因子表现出抗关节炎作用^[6-7]。麻黄碱对 KOA 的作用机制尚不清楚,本研究探讨麻黄碱对 KOA 的影响及可能的影响机制,为 KOA 的治疗提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 动物:SPF 级 SD 雄性大鼠,6~8 周龄,210~230 g,购于中国医学科学院医学实验动物研究所(许可证号:SCXK(京)2021-0004),动物饲养于温度为(22 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C,湿度约 55%,12 h/12 h 昼夜交替的环境中。本实验按照河南省中医院伦理委员会关于实验动物饲养和使用的原则进行,并审核通过(伦理号:HNSZYY202210012)。

1.1.2 主要试剂:盐酸麻黄碱片(国药准字 H36020897,规格:30 mg)购自江西制药有限责任公司;AMPK 抑制剂 Compound C (P5499, HPLC $\geq$ 98%)购自 Sigma 公司;改良番红 O-固绿软骨染色试剂盒 (G1371)、MMP-13 (K002867P)、IL-1 β

(K009661P)、p-AMPK (K009990P)、AMPK (K200063M)抗体购自索莱宝生物科技有限公司;大鼠 TNF- α (PT516)、IL-1 β (PI303) ELISA 试剂盒及 p-NF- κ B p65 (AF5881)、NF- κ B p65 (AF0246)、 β -actin (AF5003)抗体购自碧云天生物科技有限公司。大鼠环氧化酶-2(COX-2) ELISA 试剂盒 (SP13477) 购自武汉赛培生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及模型制备:根据参考文献,采用 Hulth 法^[8]制备 KOA 模型,大鼠适应性饲养 1 周后,腹腔注射 2%戊巴比妥钠麻醉大鼠,打开右膝关节腔,髌骨向外侧推,切断前交叉和内侧副韧带与内侧半月板切除,术后臀大肌注射 40 万 U 青霉素 3 d 预防感染,假手术组(Sham 组)经切开皮肤后进行缝合。术后自由活动,8 周后造模结束。造模成功后,将大鼠随机分为 KOA 组、Ephedrine 组、Ephedrine+AMPK 抑制剂组(Ephedrine+Compound C 组),每组 10 只。Ephedrine 组大鼠给予 40.0 mg/kg 的麻黄碱灌胃给药,每天 1 次,Ephedrine+Compound C 组使用 40.0 mg/kg 的麻黄碱灌胃给药及 0.2 mg/kg 的 AMPK 抑制剂 Compound C 尾静脉注射,给药剂量参考文献[7],Sham 组与 KOA 组大鼠同时灌胃与尾静脉注射等量的生理盐水,每天 1 次,连续给药 4 周。

1.2.2 膝关节宽度检测:分别于造模成功后第 1、14、28 d 观察关节肿胀情况,使用游标卡尺测量大鼠膝关节宽度。

1.2.3 大鼠疼痛阈值:分别于造模成功后第 1、14、28 d,用电子压力感测器测量大鼠机械刺激缩爪阈值,使用刺激针刺刺激大鼠右肢足底二、三跖骨处并增加刺激压力,大鼠出现缩足、舔脚等反应时记录刺激压力数值,每只大鼠连续刺激 3 次,计算平均值。

1.2.4 软骨组织病理学观察:大鼠采集完关节液后,将右侧膝关节剖开后紧贴骨关节表面切取软骨组织,其中 5 种大鼠软骨组织使用 4%多聚甲醛固定 5 d,10% EDTA 溶液脱钙 4 周,石蜡包埋后切

片,依次将切片放入二甲苯-无水乙醇-75 %乙醇脱蜡至水,自来水冲洗,固绿染液 5~10 min,洗去多余染液,至软骨呈无色,分化液稍浸泡,自来水稍洗后加入番红染液 15~30 s,使用无水乙醇快速脱水,二甲苯透明 5 min,中性树胶封片,显微镜下观察软骨组织病理变化并拍照,并进行 Mankin 评分^[9]。

1.2.5 关节液 TNF- α 、IL-1 β 、COX-2 水平检测:末次给药 24 h,大鼠腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,右侧膝关节腔穿刺取关节液,并用 0.1 mL 生理盐水冲洗关节腔,将关节液与冲洗液合并,3 000 g 离心 15 min,留取上清液,-80 ℃ 保存。根据 TNF- α 、IL-1 β 、COX-2 试剂盒说明书分别配制 TNF- α 、IL-1 β 、COX-2 标准品溶液,解冻关节液样本,使用全自动酶标仪检测 TNF- α 、IL-1 β 、COX-2 标准品溶液以及关节液在 450 nm 处的吸光度,绘制 TNF- α 、IL-1 β 、COX-2 标准品曲线,根据标准品回归曲线方程,计算 TNF- α 、IL-1 β 、COX-2 水平。

1.2.6 免疫组化检测软骨组织 IL-1 β 、MMP-13 蛋白:软骨组织石蜡切片经脱蜡、抗原修复、山羊血清封闭、加入 IL-1 β (1:1 000)、MMP-13(1:1 000)一抗稀释液,4 ℃ 孵育过夜,加羊抗兔二抗(1:1 000)37 ℃ 孵育 60 min,PBS 洗涤后 DAB 显色,苏木精复染,以细胞中出现黄色颗粒为阳性表达,采用 Image-Pro Plus 6.0 分析吸光度值。

1.2.7 Western blot 检测蛋白:各组大鼠取软骨组织匀浆后加入 RIPA 裂解液提取总蛋白,采用 Western blot 法检测蛋白,p-AMPK、AMPK、p-NF- κ B p65、NF- κ B p65 及 β -actin 一抗按照 1:1 000 稀释,HRP 标记的羊抗兔 IgG 二抗按照 1:1 500 稀释,实验结束后,以 β -actin 为内参,采用 Image-QuaNT 软件测量其吸光度,分析各蛋白相对表达量。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 25.0 软件分析数据,计量数据符合正态分布用($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),组间两两比较采用 LSD- t 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠膝关节宽度

与 Sham 组比较,给药第 14、28 d 后 KOA 组大鼠膝关节宽度显著增加($P < 0.05$);与 KOA 组比较,给药第 14、28 d 后 Ephedrine 组大鼠膝关节宽度显著降低($P < 0.05$);与 Ephedrine 组比较,Ephedrine + Compound C 组给药第 14、28 d 后大鼠膝关节宽度

显著增加($P < 0.05$),见表 1。

表 1 各组大鼠膝关节宽度比较(mm, $n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of knee joint width of rats in each group (mm, $n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	1 d	14 d	28 d
Sham	4.21 $\pm$ 0.56	4.27 $\pm$ 0.48	4.32 $\pm$ 0.51
KOA	8.31 $\pm$ 1.22 [*]	8.12 $\pm$ 1.15 [*]	7.98 $\pm$ 1.00 [*]
Ephedrine	8.42 $\pm$ 1.05	6.23 $\pm$ 0.61 [#]	5.21 $\pm$ 0.65 [#]
Ephedrine+Compound C	8.25 $\pm$ 0.97	7.34 $\pm$ 0.72 [△]	6.54 $\pm$ 0.61 [△]

注:与 Sham 组相比,^{*} $P < 0.05$;与 KOA 组比较,[#] $P < 0.05$;与 Ephedrine 组比较,[△] $P < 0.05$ 。

2.2 各组大鼠疼痛阈值

与 Sham 组比较,给药第 14、28 d 后 KOA 组大鼠疼痛阈值显著降低($P < 0.05$);与 KOA 组比较,给药第 14、28 d 后 Ephedrine 组大鼠疼痛阈值显著升高($P < 0.05$);与 Ephedrine 组比较,给药第 14、28 d 后 Ephedrine+Compound C 组大鼠疼痛阈值显著降低($P < 0.05$),见表 2。

表 2 各组大鼠疼痛阈值比较(g, $n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of pain threshold of rats in each group (g, $n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	1 d	14 d	28 d
Sham	16.35 $\pm$ 1.67	17.21 $\pm$ 1.58	17.54 $\pm$ 1.72
KOA	4.56 $\pm$ 0.72 [*]	6.24 $\pm$ 0.93 [*]	8.15 $\pm$ 1.23 [*]
Ephedrine	4.72 $\pm$ 0.83	9.26 $\pm$ 0.81 [#]	13.56 $\pm$ 1.95 [#]
Ephedrine+Compound C	4.31 $\pm$ 0.67	7.85 $\pm$ 0.87 [△]	9.60 $\pm$ 1.05 [△]

注:与 Sham 组相比,^{*} $P < 0.05$;与 KOA 组比较,[#] $P < 0.05$;与 Ephedrine 组比较,[△] $P < 0.05$ 。

2.3 各组大鼠软骨组织病理变化及 Mankin 评分

Sham 组软骨组织结构完整,细胞分布均匀,潮线清晰;KOA 组软骨组织损伤严重,结构破坏严重,细胞聚集,潮线模糊不清,Mankin 评分较 Sham 组升高($P < 0.05$);Ephedrine 组软骨损伤明显改善,软骨组织结构较完整、清晰,Mankin 评分较 KOA 组显著降低($P < 0.05$);Ephedrine + Compound C 组软骨组织损伤较 Ephedrine 组加重,软骨细胞聚集增多,潮线模糊,Mankin 评分较 Ephedrine 组升高($P < 0.05$),见图 1 与表 3。

2.4 各组大鼠关节液 TNF- α 、IL-1 β 、COX-2 水平

与 Sham 组比较,KOA 组大鼠关节液 TNF- α 、IL-1 β 、COX-2 水平显著升高($P < 0.05$);与 KOA 组比较,Ephedrine 组关节液 TNF- α 、IL-1 β 、COX-2 水平显著降低($P < 0.05$);与 Ephedrine 组比较,Ephedrine + Compound C 组关节液 TNF- α 、IL-1 β 、COX-2 水平显著升高($P < 0.05$),见表 4。

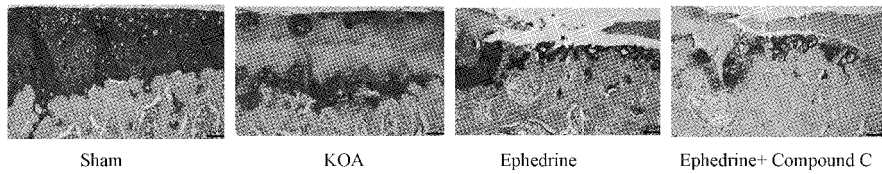


图 1 各组大鼠软骨组织病理变化(番红 O-固绿染色)

Fig.1 Pathological changes of cartilage tissue of rats in each group (safranin O-solid green staining)

表 3 各组大鼠 Mankin 评分比较(分, $n=5, \bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of Mankin scores of rats in each group (分, $n=5, \bar{x} \pm s$)

组别	Mankin
Sham	0.00±0.00
KOA	6.20±1.65 [*]
Ephedrine	3.60±1.03 [#]
Ephedrine+Compound C	4.80±1.27 [△]

注:与 Sham 组相比, ^{*} $P<0.05$;与 KOA 组比较, [#] $P<0.05$;与 Ephedrine 组比较, [△] $P<0.05$ 。

2.5 各组大鼠软骨组织 IL-1 β 、MMP-13 蛋白表达

Sham 组软骨组织仅有少量 IL-1 β 、MMP-13 蛋白阳性表达,与 Sham 组比较,KOA 组大鼠软骨组织 IL-1 β 、MMP-13 阳性表达颗粒增多,IL-1 β 、MMP-13 光密度值显著升高 ($P<0.05$);与 KOA 组比较,Ephedrine 组 IL-1 β 、MMP-13 阳性表达颗粒减少,IL-

1 β 、MMP-13 光密度值显著降低 ($P<0.05$);与 Ephedrine 组比较,Ephedrine + Compound C 组 IL-1 β 、MMP-13 阳性表达颗粒增多,IL-1 β 、MMP-13 光密度值显著升高 ($P<0.05$),见图 2 与表 5。

表 4 各组大鼠关节液 TNF- α 、IL-1 β 、COX-2 水平比较 (ng/L, $n=10, \bar{x} \pm s$)

Table 4 Comparison of TNF- α , IL-1 β , COX-2 level in joint fluid of rats in each group (ng/L, $n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α	IL-1 β	COX-2
Sham	25.34±5.36	16.15±4.31	1.47±0.25
KOA	185.42±37.53 [*]	79.54±8.75 [*]	6.43±1.61 [*]
Ephedrine	95.46±16.32 [#]	40.36±6.82 [#]	3.27±0.83 [#]
Ephedrine+Compound C	125.46±17.45 [△]	62.47±7.23 [△]	4.51±1.05 [△]

注:与 Sham 组相比, ^{*} $P<0.05$;与 KOA 组比较, [#] $P<0.05$;与 Ephedrine 组比较, [△] $P<0.05$ 。

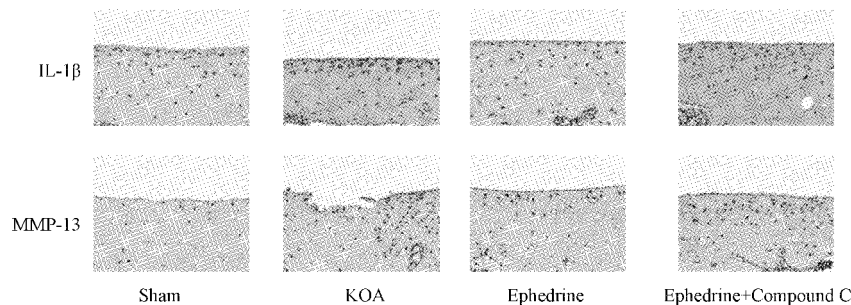


图 2 各组大鼠软骨组织 IL-1 β 、MMP-13 蛋白表达(免疫组化,200 $\times$)

Fig.2 IL-1 β , MMP-13 protein expression of rat cartilage in each group (immunohistochemistry, 200 $\times$)

表 5 各组大鼠软骨组织 IL-1 β 、MMP-13 蛋白表达(光密度值, $n=5, \bar{x} \pm s$)

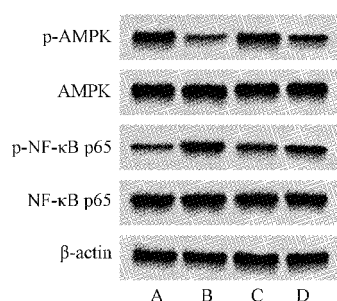
Table 5 IL-1 β , MMP-13 protein expression of rat cartilage in each group (Optical density value, $n=5, \bar{x} \pm s$)

组别	IL-1 β (光密度值)	MMP-13
Sham	0.15±0.03	0.21±0.04
KOA	0.56±0.07 [*]	0.63±0.10 [*]
Ephedrine	0.27±0.04 [#]	0.32±0.05 [#]
Ephedrine+Compound C	0.41±0.05 [△]	0.53±0.07 [△]

注:与 Sham 组相比, ^{*} $P<0.05$;与 KOA 组比较, [#] $P<0.05$;与 Ephedrine 组比较, [△] $P<0.05$ 。

2.6 各组软骨组织 AMPK/NF- κ B 通路相关蛋白表达

Western blot 结果显示,与 Sham 组比较,KOA 组大鼠软骨组织 p-AMPK/AMPK 水平显著降低, p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 水平显著升高 ($P<0.05$);与 KOA 组比较,Ephedrine 组 p-AMPK/AMPK 水平显著升高, p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 水平显著降低 ($P<0.05$);与 Ephedrine 组比较,Ephedrine+Compound C 组 p-AMPK/AMPK 水平显著降低, p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 水平显著升高 ($P<0.05$),见图 3 与表 6。



注: A: Sham group; B: KOA group; C: Ephedrine group; D: Ephedrine + Compound C group.

图 3 Western blot 检测 p-AMPK、AMPK、p-NF-κB p65、NF-κB p65 蛋白表达

Fig.3 p-AMPK, AMPK, p-NF-κB p65 and NF-κB p65 proteins expression were detected by Western blot

表 6 各组大鼠软骨组织 AMPK/NF-κB 通路相关蛋白表达比较 ($n=5, \bar{x} \pm s$)

Table 6 Comparison of AMPK/NF-κB pathway related proteins expression of rat cartilage in each group ($n=5, \bar{x} \pm s$)

组别	p-AMPK/AMPK	p-NF-κB p65/NF-κB p65
Sham	0.85±0.08	0.19±0.04
KOA	0.25±0.04 *	0.79±0.08 *
Ephedrine	0.61±0.06 #	0.31±0.04 #
Ephedrine+Compound C	0.43±0.05 ^	0.53±0.06 ^

注: 与 Sham 组相比, * $P<0.05$; 与 KOA 组比较, # $P<0.05$; 与 Ephedrine 组比较, ^ $P<0.05$ 。

3 讨论

关节软骨发生病变及结构破坏为 KOA 主要病理表现之一, 软骨损伤后自我修复能力较差, 进而影响膝关节活动功能, 软骨细胞外基质降解与细胞凋亡可导致 KOA 软骨降低^[10]。

目前 KOA 的治疗主要包括物理治疗与药物治疗, 但只能缓解症状, 不能根治, 因此寻找有效治疗药物具有重要意义。麻黄具有利尿、镇咳、平喘、解热、升高血压与兴奋中枢神经等多种药理学作用, 麻黄碱是中药麻黄的主要成分, 在呼吸系统疾病、心血管系统疾病、中枢神经系统疾病中均有广泛的应用^[11]。研究显示, 麻黄碱与瑞帕林 II 联合治疗可减少哮喘大鼠气道重塑和炎症反应, 改善哮喘大鼠肺组织高反应性^[12]。本研究给予 KOA 大鼠麻黄碱干预后, 大鼠软骨组织病理损伤减轻, 膝关节宽度显著降低, 疼痛阈值显著升高, 提示麻黄碱可有效改善 KOA 症状与病理损伤。

炎症与 KOA 的发病机制密切相关, 关节囊滑膜组织和关节腔内炎症因子如 IL-1β、TNF-α 促进关节软骨细胞外基质蛋白降解, 加速软骨破坏, 促进 KOA 进程^[13]。IL-1β、TNF-α 等炎症介质可诱导

COX-2 与 MMP-13 大量表达, COX-2 可与前列腺素合成酶 (PGES) 结合形成 PGE-2, 促进关节肿胀与血管扩张, 导致疼痛产生, MMP-13 可降解软骨基质中的 Collagen II, 诱导软骨细胞变性凋亡, 破坏软骨完整性^[14]。本研究给予大鼠麻黄碱干预后, 大鼠关节液 TNF-α、IL-1β、COX-2 水平及软骨组织 IL-1β、MMP-13 表达水平显著降低, 提示麻黄碱通过抑制炎症反应改善 KOA 大鼠软骨病理损伤。已有研究证实, 抑制炎症因子释放, 可改善关节软骨代谢, 促进关节软骨修复^[15]。本研究亦印证这一观点。

AMPK/NF-κB 信号通路参与炎症反应, AMPK 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 可抑制氧化应激与炎症反应, 在软骨细胞中, AMPK 可通过调节下游基因表达 (如 PGC-1α、SIRT1) 增强软骨细胞线粒体生物合成和功能, 抑制软骨细胞产生氧化应激增强细胞活性, 在关节炎软骨细胞中 AMPK 活性降低^[16]。NF-κB 信号通路是一种炎症性通路, AMPK 通过下调 NF-κB 抑制 TNF-α、IL-1β 等炎症因子分泌, 抑制软骨细胞的炎症反应, 促进软骨修复^[17]。研究显示, 茶黄素通过调节 AMPK/SIRT1/NF-κB 信号通路, 抑制炎症反应与氧化应激, 对 KOA 大鼠起治疗作用^[18]。本研究结果显示, 麻黄碱可激活 AMPK 通路, 抑制 NF-κB 信号通路, 提示麻黄碱可能通过调节 AMPK/NF-κB 信号通路改善大鼠 KOA。Shi 等^[19]研究显示, 麻黄碱通过抑制 NF-κB 信号通路, 降低炎症反应, 减轻大鼠脑缺血/再灌注损伤。本研究亦证实麻黄碱可抑制 NF-κB 信号通路激活。此外, 给予 KOA 大鼠 AMPK 抑制剂 Compound C 后, 大鼠软骨组织损伤加重, 炎症因子水平增加, 麻黄碱改善 KOA 的作用被部分逆转, 证实麻黄碱通过激活 AMPK 通路抑制 NF-κB 信号通路, 抑制炎症反应, 改善 KOA 大鼠软骨炎性损伤。

综上所述, 麻黄碱通过激活 AMPK 通路, 抑制 NF-κB 信号通路, 抑制炎症反应, 改善 KOA 大鼠软骨损伤, 麻黄碱可能成为治疗 KOA 的潜在药物。

【参考文献】

- [1] Jang S, Lee K, Ju JH. Recent updates of diagnosis, pathophysiology, and treatment on osteoarthritis of the knee[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(5):2619.
- [2] Poutoglidou F, Pourzitaki C, Manthou ME, et al. The inhibitory effect of tocilizumab on systemic bone loss and tendon inflammation in a juvenile Collagen-Induced arthritis rat model [J]. Connect Tissue Res, 2022, 63(6):577-589.

(下转第 1483 页)

- 织工程研究,2023,27(2):246-251.
- [23] 姚乾宁,谢兴文,李鼎鹏,等. MAPK 通路与骨质疏松症的关系及中医药干预的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志(网络首发),2022-11-30.
- [24] 尹超. 磷酸化调控的半合成荧光蛋白用于蛋白激酶和蛋白磷酸酶活性检测[D]. 长沙: 湖南大学,2015.
- [25] 高丰衣,陈艳梅. 质谱技术探索蛋白磷酸化信号机制的研究进展[J]. 科学通报, 2021, 66(20): 2529-2541.
- [26] 覃莹莹,董林红,蒋秋燕,等. P38MAPK 信号通路在电针分娩镇痛领域的研究进展[J]. 现代中医药, 2016, 36(4): 82-86.
- [27] 齐艳喆,王姿,欧阳厚淦,等. 中药调控 p38 MAPK、ERK1/2、JNK 等治疗骨质疏松症的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2023,29(12):222-229.
- [28] 王喜军,张宁,孙晖,等. 六味地黄丸血中移行成分对氯化可的松致大鼠肾虚动物模型的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(2):33.
- [29] 雷欣东,杨磊,朱付平,等. 不同炮制山茱萸入方的六味地黄汤对去卵巢大鼠股骨 OPG/RANK/RANKL 基因表达的干预作用及机理[J]. 中医药信息,2021,38(9):16-21.
- [30] Tan XL, Zhang YH, Cai JP, et al. 5-(Hydroxymethyl)-2-furaldehyde inhibits adipogenic and enhances osteogenic differentiation of rat bone mesenchymal stem cells[J]. Nat Prod Commun,2014, 9(4): 529-532.
- [31] 雷欣东,于慧,戴冰,等. 研究不同炮制山茱萸入方的六味地黄汤对去卵巢绝经后骨质疏松症大鼠的干预作用及机制[J]. 中南药学,2020,18(3):439-443.
- [32] 沈耿杨,任辉,江晓兵,等. 去卵巢大鼠不同时期骨量、骨转换指标、雌激素水平的变化规律及相关性[J]. 中国组织工程研究,2015,19(2):170-176.
- [33] 宫蕊. 六味地黄丸干预绝经后骨质疏松与骨质疏松相关疾病基因表达生物信息学分析研究[D]. 石家庄: 河北医科大学,2019.
- [34] 毛未贤,张萌萌,马倩倩,等. 长春地区女性骨密度与年龄、绝经年限、体重指数的相关性研究[J]. 中国骨质疏松杂志,2016,22(9):1083-1086.
- [35] 杨华,程昌志,罗远国,等. 广西地区绝经后妇女骨密度影响因素分析[J]. 西部医学, 2014, 26(11): 1504-1506.
- (收稿日期:2023-04-13;修回日期:2023-05-21)

(上接第 1419 页)

- [3] Qian Z, Ru X, Liu C, et al. Fraxin prevents knee osteoarthritis through inhibiting chondrocyte apoptosis in an experimental rat osteoarthritis model[J]. Protein Pept Lett, 2021, 28(11): 1298-1302.
- [4] Jie F, Yang X, Yang B, et al. Stigmasterol attenuates inflammatory response of microglia via NF- κ B and NLRP3 signaling by AMPK activation[J]. Biomed Pharmacother, 2022, 153(1):113317.
- [5] Li M, Han H, Chen L, et al. Platelet-rich plasma contributes to chondroprotection by repairing mitochondrial function via AMPK/NF- κ B signaling in osteoarthritic chondrocytes[J]. Tissue Cell, 2022, 77(1):101830.
- [6] 杨玲,刘杰,李江平,等. 麻黄碱介导 TSLP/OX40L 通路调节变应性鼻炎大鼠 Th2 型免疫反应的作用研究[J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(3):319-323.
- [7] Ahsan H, Irfan HM, Alamgeer, et al. Therapeutic appraisal of ephedrine against rheumatoid arthritis: A new indication[J]. Pak J Pharm Sci, 2021, 34(4(Suppl)):1549-1554.
- [8] 李金鹏,刘涛,何志军,等. 消肿止痛合剂对大鼠膝骨性关节炎软骨中 AMPK/mTOR 信号通路影响的实验研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2020, 26(2):231-235.
- [9] Mankin HJ, Johnson ME, Lippiello L. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. III. Distribution and metabolism of amino sugar-containing macromolecules[J]. J Bone Joint Surg Am, 1981, 63(1):131-139.
- [10] Bao J, Chen Z, Xu L, et al. Rapamycin protects chondrocytes against IL-18-induced apoptosis and ameliorates rat osteoarthritis[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(6):5152-5167.
- [11] Huang L, Zhao B, Li Q, et al. Ephedrine alleviates middle cerebral artery occlusion-induced neurological deficits and hippocampal neuronal damage in rats by activating PI3K/AKT signaling pathway[J]. Bioengineered, 2021, 12(1):4136-4149.
- [12] Wang Q, Cui Y, Wu X, et al. Riparin II potentials the effect of ephedrine on inflammation and remodelling in the airway of rats suffering from asthma by regulating transforming growth factor- β /Smad3 signalling pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 90(1):107116.
- [13] Xie Z, Wang B, Zheng C, et al. Taraxasterol inhibits inflammation in osteoarthritis rat model by regulating miRNAs and NF- κ B signaling pathway[J]. Acta Biochim Pol, 2022, 69(4): 811-818.
- [14] Qin Y, Cai ML, Jin HZ, et al. Age-associated B cells contribute to the pathogenesis of rheumatoid arthritis by inducing activation of fibroblast-like synoviocytes via TNF- α -mediated ERK1/2 and JAK-STAT1 pathways[J]. Ann Rheum Dis, 2022, 81(11): 1504-1514.
- [15] 李兴,肖方骏,李震,等. 补肾活血方干预小鼠膝关节关节炎软骨修复的机制[J]. 中成药, 2022, 44(2):582-586.
- [16] Huang L, Zhao B, Li Q, et al. Ephedrine alleviates middle cerebral artery occlusion-induced neurological deficits and hippocampal neuronal damage in rats by activating PI3K/AKT signaling pathway[J]. Bioengineered, 2021, 12(1):4136-4149.
- [17] Guo H, Ding D, Wang L, et al. Metformin attenuates osteoclast-mediated abnormal subchondral bone remodeling and alleviates osteoarthritis via AMPK/NF- κ B/ERK signaling pathway[J]. PLoS One, 2021, 16(12): 61127.
- [18] 郭文帆,杨学钰,郑雪君,等. 茶黄素调节 AMPK/SIRT1/NF- κ B 信号通路对膝关节关节炎大鼠的治疗作用[J]. 河北医学, 2023, 29(1):42-49.
- [19] Shi C, Li J, Li J. Ephedrine attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury in rats through NF- κ B signaling pathway[J]. Hum Exp Toxicol, 2021, 40(6):994-1002.
- (收稿日期:2023-04-04;修回日期:2023-04-21)