

• 基础研究 •

超声波对兔膝关节骨关节炎关节滑膜和滑液 VEGF 及 MMP-13 表达的影响

梁 杰¹ 陈舜喜¹ 卞智淮¹ 朱雨珍² 郑明煜² 陈小莉²

【摘要】 目的 探讨超声波对兔膝关节骨关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 关节滑膜和关节滑液血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、基质金属蛋白酶-13 (matrix metalloproteinases-13, MMP-13) 表达的影响。**方法** 选取 24 只新西兰大白兔随机分为假手术组 (sham-operated group, SO 组)、骨关节炎组 (osteoarthritis group, OA 组) 和超声治疗组 (ultrasound treatment group, UT 组)。采用前交叉韧带横断术 (anterior cruciate ligament transection, ACLT) 法造模, UT 组予超声波治疗仪治疗兔膝关节; OA 组处理同上, 但未打开超声波治疗仪; SO 组未做处理。干预 2 周后, 抽取关节液标本, 并观察标本滑膜、软骨的大体形态; 酶联免疫吸附法检测关节滑液 VEGF 和 MMP-13 的表达; Western blot 方法检测关节滑膜 VEGF 和 MMP-13 的表达。**结果** 与 SO 组相比, OA 组和 UT 组兔膝关节骨关节炎评分均显著升高 ($P < 0.05$); 与 OA 组相比, UT 组兔膝关节骨关节炎评分显著降低 ($P < 0.05$)。与 SO 组相比, OA 组和 UT 组兔膝关节滑液及滑膜中 VEGF 和 MMP-13 的蛋白水平均显著升高 ($P < 0.05$); 与 OA 组相比, UT 组兔膝关节滑液及滑膜中 VEGF 和 MMP-13 的蛋白水平显著降低 ($P < 0.05$)。**结论** 超声波治疗能明显抑制兔膝关节滑膜增生, 有效抑制关节滑液和滑膜组织中 VEGF、MMP-13 的表达水平, 从而达到防治 KOA 的作用。

【关键词】 超声波; 大白兔; 膝关节; 基质金属蛋白酶-13; 血管内皮生长因子

【中图分类号】 R49 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1002-2600(2025)03-0061-06

Influence of ultrasound on expression of VEGF and MMP-13 in joint synovium and synovial fluid of rabbits with knee osteoarthritis

LIANG Jie¹, CHEN Shunxi¹, BIAN Zhihuai¹, ZHU Yuzhen², ZHENG Mingyu², CHEN Xiaoli²

¹ Department of Rehabilitation Medicine, The Second General Hospital of Fuzhou, Fuzhou, Fujian 350007, China; ² Fujian University of Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350013, China

Corresponding author: CHEN Shunxi, Email: csx123@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the influence of ultrasound on the expression of VEGF and MMP-13 in the joint synovium and synovial fluid of rabbit with knee osteoarthritis (KOA). **Methods** Twenty-four New Zealand white rabbits were randomly assigned into three groups: the sham-operated group (SO group), the osteoarthritis group (OA group), and the ultrasound treatment group (UT group). The model was made by anterior cruciate ligament transection. The UT group was treated with an ultrasound therapy device on the rabbit knee joint; the OA group received the same treatment but the ultrasound therapy device was not activated; the SO group received no treatment. After two weeks of intervention, joint fluid specimens were extracted, and the gross morphology of the synovial membrane and cartilage of the specimens was observed. The expression of VEGF and MMP-13 in the joint fluid was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the expression of VEGF and MMP-13 in the joint synovial membrane was detected by Western blot method. **Results** Compared with the SO group, the OA and UT groups showed significantly increased osteoarthritis markers in the rabbit knee joints ($P < 0.05$); compared with the OA group, the UT group showed significantly decreased osteoarthritis markers in the rabbit knee joints ($P < 0.05$). Compared with the SO group, the OA and UT groups showed significantly increased VEGF and MMP-13 protein levels in the rabbit knee joint synovial fluid and synovium ($P < 0.05$); compared with the OA group, the UT group showed signifi-

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2023J011508); 福建省科技创新平台项目 (福建省创伤骨科急救与康复临床医学研究中心, 2020Y2014)

作者单位: 1 福建省福州市第二总医院康复医学科, 福州 350007; 2 福建中医药大学, 福州 350013

通信作者: 陈舜喜, Email: csx123@sina.com

DOI: 10.20148/j.fmj.2025.03.016

cantly decreased VEGF and MMP-13 protein levels in the rabbit knee joint synovial fluid and synovium ($P < 0.05$). **Conclusion** Ultrasound therapy can significantly inhibit the proliferation of synovial membrane in rabbit knee joints, slow down the progression of osteoarthritis, effectively reduce the expression levels of VEGF and MMP-13 in synovial fluid and synovial tissue, and thus achieve the goal of preventing and treating KOA.

【Key words】 ultrasound; rabbit; knee joint; matrix metalloproteinase-13; vascular endothelial growth factor

膝关节骨关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 是一种以膝关节软骨退行性变、滑膜炎症及骨赘形成特征的慢性退行性疾病。其病理机制涉及多种分子调控机制的失衡,包括炎症因子释放、基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 的异常活化及血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 介导的滑膜血管翳形成等过程。近年的研究表明, MMP-13 作为降解 II 型胶原的关键酶,在骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 软骨破坏中发挥核心作用,而 VEGF 通过促进滑膜血管生成和炎症反应,进一步加剧关节微环境的失衡^[1]。在 OA 的病理进程中,滑膜组织的炎症反应与软骨基质的降解密切相关。因此,调控 MMP-13 和 VEGF 的表达可能成为干预 OA 进展的重要靶点。

超声波自应用于医学领域以来,被证实具有疗效显著、无创无痛、操作简便、治疗定位准确、适用范围广等优点^[2-3]。既往的研究显示,超声波因其抗炎、促进组织修复及调控细胞信号通路的特性,可通过抑制 NF- κ B 通路减少促炎因子释放,或通过机械刺激调节细胞外基质的合成与降解平衡^[4]。然而,超声波对 KOA 滑膜及滑液中 VEGF 和 MMP-13 表达的具体影响及其分子机制尚不明确,亟待深入探索。本研究以兔 KOA 模型为对象,聚焦超声波治疗对滑膜组织及滑液中 VEGF 和 MMP-13 的调控作用,旨在揭示其潜在的治疗机制,为超声波治疗 KOA 的临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选取 6 月龄健康普通级雌性新西兰大白兔 24 只,体重 (2.6 ± 0.6) kg,由浙江宏润生物科技有限公司提供 (质量合格证编号: 20240228Cezz-0600000687)。实验动物饲养于福建省医学科学研究所实验动物中心。饲养环境保持温度 $18 \sim 24$ °C、湿度 $40\% \sim 60\%$,给予充足饮水和已灭菌饲料。所有实验动物操作均严格遵循动物实验减少、替代、优化原则。

1.2 试剂及仪器

兔抗人 VEGF (北京 Boosen 公司)、兔抗人

MMP-13 (北京 Boosen 公司)、兔抗人 β -actin 多克隆抗体 (美国 ImmunoWay 公司),美国 Beckman couler DU800 分光光度仪,酶联免疫吸附测定试剂盒 (武汉华美生物技术有限公司),高速低温冷冻离心机 (贝克曼库尔特 Avanti JXN-26),凝胶扫描分析系统 (美国 BIO2RADGD 2000),高速离心机 (德国 Eppendorf 公司),Image ProPlus 6.0 图像分析软件 (Media Cybemeties 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 造模与分组

将 24 只大白兔随机分为假手术组 (sham-operated group, SO 组)、骨性关节炎组 (osteoarthritis group, OA 组) 和超声治疗组 (ultrasound treatment group, UT 组),每组 8 只。SO 组仅用手术刀切开皮肤,未制成 KOA 模型;而 OA 组和 UT 组采用前交叉韧带横断术 (anterior cruciate ligament transection, ACLT) 法制成 KOA 模型^[5]。手术步骤和术后处理:麻醉成功后采用髌旁内缘中点纵向切口,逐层切开,暴露关节腔,于伸直位外翻髌骨并屈曲膝关节,暴露前交叉韧带,以眼科剪剪断前交叉韧带,检测前抽屉试验阳性;无菌生理盐水冲洗,复位髌骨后逐层缝合并消毒。术后分笼饲养 6 周,不固定兔子,允许笼内自由活动。

待造模成功后,UT 组予超声波治疗仪治疗兔膝关节,具体方法和干预参数:在膝部均匀涂上超声耦合剂,放上密封生理盐水袋 (水囊接触法),开启超声波治疗仪,选择参数为强度 300 mW/cm^2 、频率 1 MHz、脉冲通断比为 20% 、每次 20 min,持续时间 6 d,停止 2 d,再继续 6 d^[6-7]。OA 组处理同上,但未打开超声波治疗仪;SO 组未做处理。

1.3.2 标本采集及处理

2 周的干预结束后,采用空气栓塞法处死实验动物,消毒皮肤,切开发节囊,用注射器抽取、收集关节液标本,并观察标本滑膜、软骨的大体形态,切取关节滑膜组织,使用磷酸盐缓冲液 (PBS) 冲洗,液氮保存,待整组滑膜都切取结束后,置入 -80 °C 冰箱中保存。

1.3.3 关节炎评分

采用关节炎评分法评价兔 KOA 的严重程度。关节炎评分法分为 0~4 级：0 级，无关节炎（0 分）；1 级，关节轻度肿胀或存在红色斑点（1 分）；2 级，关节中度红肿（2 分）；3 级，关节重度红肿（3 分）；4 级，关节严重红肿且不能负重（4 分）^[8]。

1.3.4 HE 染色观察软骨细胞形态

将股骨髁常规脱钙，石蜡包埋，切片，HE 染色，光学显微镜下观察软骨细胞形态。

1.3.5 酶联免疫吸附法检测关节滑液 VEGF 和 MMP-13 的表达

采用酶联免疫吸附实验检测关节滑液 VEGF、MMP-13 的含量。严格按照说明书操作，以空白孔调零，用酶标仪在 450 nm 波长处依序测量各孔的吸光度（A）值，根据标准品浓度及对应的 A 值计算出标准曲线，在标准曲线上查出待测标本 VEGF、MMP-13 的含量。

1.3.6 Western blot 方法检测滑膜 VEGF 和 MMP-13 的表达

将兔膝关节囊的滑膜组织从 -80 ℃ 冰箱中取出并剪碎，经裂解离心后提取组织总蛋白，采用二辛可宁酸（BCA）法测定蛋白浓度。将目标蛋白经沸水浴变性后上样，每孔上样量为 25 μg，以 12% 分离胶进行电泳，转印，5% 脱脂奶粉封闭过夜，一抗、二抗分别室温孵育 2 h，洗膜后用增强化学发光法显色、显影和曝光，以 β-肌动蛋白（β-actin）为内参，用 Image-Pro 软件分析条带灰度值。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 24.0 统计软件。对符合正态分布的

计量资料比较采用单因素方差分析，以 LSD-*t* 检验作为事后检验方法；若不符合正态分布或方差不齐，采用秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 关节炎评分

SO 组关节结构正常，无特殊。OA 组关节出现了重度红肿现象，部分出现不能负重，同时伴随着轻、中度脱毛等症状。而 UT 组的关节炎症反应较 OA 组呈现消退现象。SO 组、OA 组、UT 组关节炎评分分别为 0、 (3.56 ± 0.51) 、 (2.75 ± 0.68) 分，与 OA 组相比，UT 组关节炎评分明显降低，差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。

2.2 大体观察

SO 组兔膝关节无肿胀，滑膜无充血、水肿、肥厚，关节液透明，关节软骨光滑、呈半透明状；OA 组兔膝关节肿胀，滑膜充血，关节液呈淡黄色浑浊状态，关节软骨灰暗，部分软骨剥脱，软骨下骨质暴露；UT 组兔膝关节轻度肿胀，滑膜少量充血，关节液呈淡黄色状态，关节软骨面以色泽偏暗、少量溃疡形成为主。

2.3 HE 染色结果

SO 组软骨浅表层完整，软骨基质和结构正常，软骨细胞形态、排列正常，潮线清晰完整（图 1a）。OA 组软骨细胞表面粗糙，软骨细胞排列紊乱，纵行裂隙形成，软骨基质淡染，潮线模糊（图 1b）。UT 组软骨细胞改变介于 SO 组与 OA 组之间，软骨表面稍粗糙、水肿，浅层基质局灶性深染，细胞排列尚可，软骨细胞增殖、簇集、肥大（图 1c）。

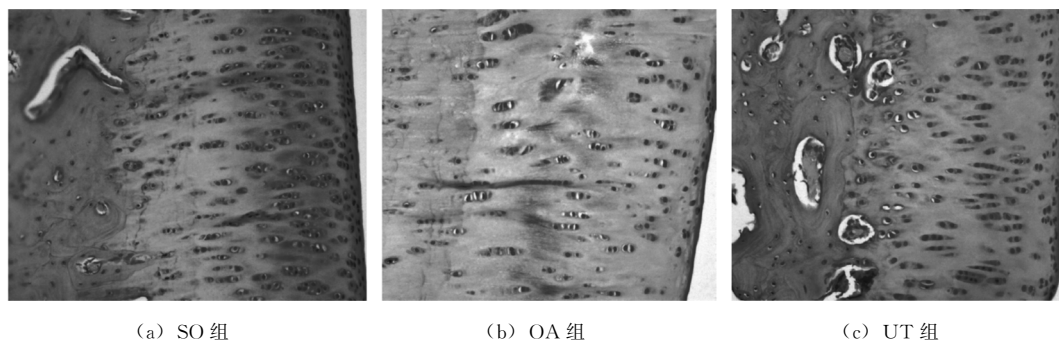


图 1 关节软骨 HE 染色结果（×20）

2.4 关节液中 VEGF 和 MMP-13 的蛋白表达

与 SO 组相比，OA 组、UT 组兔膝关节滑液中 VEGF 和 MMP-13 的蛋白水平均升高（ P 均 <

0.05）；与 OA 组相比，UT 组兔膝关节滑液中 VEGF 和 MMP-13 的蛋白水平均降低（ P 均 < 0.05）。见表 1。

表 1 3 组关节液中 VEGF 和 MMP-13 的蛋白表达比较
($n=8$, ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	VEGF 蛋白	MMP-13 蛋白
SO 组	20.71 \pm 6.90	20.36 \pm 5.15
OA 组	185.69 \pm 8.66 ^①	95.36 \pm 12.35 ^①
UT 组	126.67 \pm 7.64 ^{①②}	76.55 \pm 9.86 ^{①②}

注：与 SO 组比较，^① $P<0.05$ ；与 OA 组比较，^② $P<0.05$ 。

2.5 关节滑膜中 VEGF 和 MMP-13 的蛋白表达和条带灰度值比较

与 SO 组相比，OA 组、UT 组兔膝关节滑膜中 VEGF 和 MMP-13 的蛋白水平均升高 (P 均 < 0.05)；与 OA 组相比，UT 组兔膝关节滑膜中 VEGF 和 MMP-13 的蛋白水平均降低 (P 均 < 0.05)。见图 2、表 2。

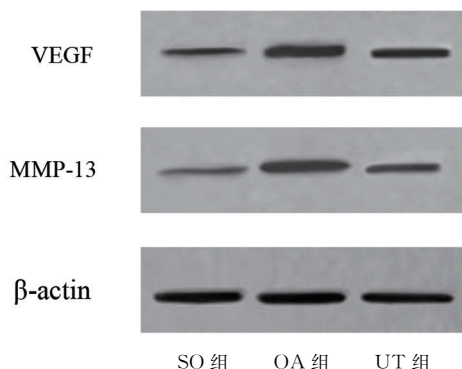


图 2 关节滑膜中 VEGF 和 MMP-13 的蛋白表达结果

表 2 3 组关节滑膜中 VEGF 和 MMP-13 蛋白表达的条带灰度值比较 ($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

组别	VEGF 蛋白	MMP-13 蛋白
SO 组	276.46 \pm 28.53	259.85 \pm 34.28
OA 组	825.36 \pm 65.24 ^①	623.67 \pm 35.65 ^①
UT 组	516.02 \pm 31.58 ^{①②}	458.69 \pm 25.39 ^{①②}

注：与 SO 组比较，^① $P<0.05$ ；与 OA 组比较，^② $P<0.05$ 。

3 讨论

KOA 是中老年人的常见病和多发病，其主要病理表现包括血管增生、滑膜炎反应、大量细胞因子生成、关节软骨破坏等。目前针对 KOA 的治疗措施均不能够阻止或逆转 KOA 的进展，具有一定的局限性和不足，或仅作为疾病发生后的补救措施用以缓解临床症状。当前无手术指征的 KOA 患者主要治疗措施包括中医传统康复（内服或外敷中药、针刺、灸法）和现代康复方法（口服或关节腔注射药物、物理疗法等）。随着现代康复的发展，

应用物理因子疗法为主以缓解疼痛是多数早、中期 KOA 患者的主要干预措施^[9]。根据超声波的作用原理，其在关节的软骨面、骨皮质、骨膜等上产热较多，对于关节韧带、滑膜和软骨疾病的治疗有重要意义^[10]；同时，由于超声波对细胞有微按摩和生理性空化效应，使得其在针对 KOA 韧带、滑膜、软骨、半月板等病变时更具有独特的优势。研究发现，超声波治疗 KOA 疗效优于低功率激光、超短波、脉冲电磁场等物理因子疗法^[11]；其治疗时间（5~10 min）明显少于其他物理因子（20~40 min）。

在 KOA 的病理进程中，滑膜炎作为关键的病理特征之一，通过关节滑液中浸润的炎症细胞（如巨噬细胞、中性粒细胞等）及高水平细胞因子（如 IL-1 β 、TNF- α 等）的持续释放，促进关节周围组织损伤与恶化。炎症介质不仅参与 OA 的初始病理启动，更通过调控基质降解酶表达、软骨细胞凋亡及血管新生等机制，维持并加剧疾病进展。研究证实，KOA 患者滑液中 MMP-13 的浓度显著升高，且与滑膜中 MMP-3 的表达呈正相关，提示 MMPs 家族成员在关节破坏中的协同作用^[12-13]。滑膜炎的增加与软骨的退化有关^[14]，且与膝盖疼痛的变化相关^[15]。VEGF 可调控内皮血管细胞自身增殖、迁移及血管新生等生物学过程，并影响滑膜血管翳的产生，其过表达可造成滑膜炎和软骨破坏等^[16-17]。因此，VEGF 可在 KOA 患者关节液中高表达，导致关节滑膜产生慢性化、持续化的炎症，并最终参与到 OA 软骨损害的病理过程。本研究发现：（1）兔 KOA 组中存在关节滑膜充血、关节液呈淡黄色浑浊，以及软骨面不同程度的破坏等；（2）兔 KOA 组滑膜、关节液中 VEGF 蛋白表达水平显著升高，且与关节滑膜增生程度、关节炎评分呈正相关趋势。这些结果提示，VEGF 可作为评估 KOA 患者病情进展的重要指标。

MMPs 是一类细胞外基质的降解蛋白酶，在组织降解、修复等过程中起着重要作用，其中 MMP-13 是最重要、最有效的域型胶原纤维降解酶。研究发现，KOA 患者关节液中有大量的促炎性细胞因子，炎症因子在产生级联反应的同时会释放出 VEGF，VEGF 能刺激软骨细胞产生大量的金属蛋白酶，使 MMP-13 的表达增加^[18-21]，从而破坏其与金属蛋白酶抑制剂之间的平衡状态，加速域型胶原的降解，最终导致软骨结构的进一步破坏^[22]，促进 KOA 的病情发展。

超声波通过其机械效应、温热效应和理化效应,改善血液循环、加速炎症介质的清除,发挥强大的消炎、消肿作用^[23]。前期临床研究发现,超声波治疗早、中期 KOA 临床疗效显著,我们推测超声波可以通过抑制或减轻膝关节滑液和滑膜炎,减少炎症因子和 VEGF 的释放,下调关节液和滑膜中 MMP-13 的表达,进而影响关节软骨中 MMP-13 的表达,最终抑制软骨的破坏,从而达到防治 KOA 的作用。本研究结果证实:(1) UT 组关节滑液、关节滑膜组织中 VEGF 与 MMP13 的蛋白表达均呈下降趋势,与 OA 组相比差异具有统计学意义;(2) UT 组兔膝关节大体观察的表现介于 SO 组与 OA 组之间,关节轻度肿胀,滑膜少量充血,关节软骨面以轻度损伤表现为主;(3) UT 组软骨细胞改变亦介于 SO 组与 OA 组之间,软骨表面稍粗糙、水肿,软骨细胞排列尚可;(4) 肉眼观察 UT 组兔膝关节处于轻度肿胀或中度红肿状态,优于 OA 组的重度红肿状态,两组关节炎评分差异有统计学意义。因此,我们认为超声波疗法可能通过 VEGF 通路抑制了 MMP-13 的表达,减缓了 KOA 关节滑膜、关节滑液和软骨细胞的病理变化,从而改善和治疗 KOA 的临床症状。

本研究表明,超声波治疗能明显抑制兔膝关节滑膜增生,有效抑制关节滑液和滑膜组织中 VEGF、MMP-13 的蛋白表达水平,从而达到防治 KOA 的作用。本研究系统探讨超声波治疗对 KOA 病理进程中关键调控因子 VEGF 和 MMP-13 的双重抑制作用,突破了传统药物治疗的单一靶向局限,为 KOA 物理因子治疗机制研究提供了新思路。但本研究仅采用固定的超声治疗参数,未对比不同频率、强度或治疗时长的效果差异,后续需通过多维参数矩阵实验确定最佳参数组合。

参考文献

- [1] 方路,徐静,孔倩倩,等.血清软骨代谢标志物及自噬基因在膝关节炎和类风湿性关节炎中的变化研究[J].徐州医科大学学报,2023,43(12):911-915.
- [2] 梁传财,邱波.低强度脉冲超声在骨关节炎研究中的应用进展[J].生物技术进展,2022,12(2):243-247.
- [3] 康知然,龚利,戴大城.超声波治疗膝骨关节炎临床研究的现状[J].中国康复医学杂志,2022,37(3):399-404.
- [4] 欧阳辉,林星瑾,王金英,等.低强度脉冲超声作用于膝骨关节炎炎症相关信号通路的研究进展[J].康复学报,2023,33(5):470-476.
- [5] 张加强,魏长征,吴祎,等.交联几丁糖治疗兔膝骨关节炎的实验研究[J].中国修复重建外科杂志,2019,33(2):185-189.
- [6] Zeng D, Luo Q, Lin H, et al. The effect of therapeutic ultrasound to apoptosis of chondrocyte and caspase-3 and caspase-8 expression in rabbit surgery-induced model of knee osteoarthritis [J]. Rheumatol Int, 2012, 32 (12): 3771-3777.
- [7] 樊思琴,李珊,梁杰,等.超声导入复方三七消痛软膏对兔膝骨性关节炎滑膜形态和软骨细胞 caspase-9、XIAP 表达的影响[J].北京中医药大学学报,2017,40(9):750-757.
- [8] 田育魁,郝洋,刘俊昌,等.高分子绷带结合塑料杆建立的兔膝关节关节炎模型[J].中国组织工程研究,2020,24(23):3690-3695.
- [9] 黄梁江,史巍巍,陆敏.膝关节炎性关节炎的康复治疗新进展[J].中国康复,2022,37(4):252-256.
- [10] 燕铁斌.物理治疗学[M].北京:人民卫生出版社,2018:436-443.
- [11] 侯太甫,殷恒斌,许梦雅,等.低强度脉冲聚焦超声联合经皮神经电刺激治疗膝骨性关节炎的疗效[J].中华物理医学与康复杂志,2023,45(3):251-254.
- [12] Hu Q, Ecker M. Overview of MMP-13 as a promising target for the treatment of osteoarthritis [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(4):1742.
- [13] Bendele A M, Neelagiri M, Neelagiri V, et al. Development of a selective matrix metalloproteinase 13 (MMP-13) inhibitor for the treatment of Osteoarthritis [J]. Eur J Med Chem, 2021, 224: 113666.
- [14] Lange-Brokaar B J E D, Ioan-Facsinay A, Yusuf E, et al. Evolution of synovitis in osteoarthritic knees and its association with clinical features [J]. Osteoarthritis & Cartilage, 2016, 24(11):1867-1874.
- [15] Dainese P, Wyngaert K V, De Mits S, et al. Association between knee inflammation and knee pain in patients with knee osteoarthritis: a systematic review [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2022, 30(4):516-534.
- [16] Ma K, Pham T, Wang J, et al. Nanoparticle-based inhibition of vascular endothelial growth factor receptors alleviates osteoarthritis pain and cartilage damage [J]. Sci Adv, 2024, 10(7): eadi5501.
- [17] Nagao M, Hamilton J L, Kc R, et al. Vascular endothelial growth factor in cartilage development and osteoarthritis [J]. Sci Rep, 2017, 7(1):13027.
- [18] Baggio C, Boscaro C, Oliviero F, et al. Gender differences and pharmacological regulation of angiogenesis induced by synovial fluids in inflammatory arthritis [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 152: 113181.
- [19] Deng S, Zhou J L, Peng H, et al. Local intraarticular injection of vascular endothelial growth factor accelerates articular cartilage degeneration in rat osteoarthritis model [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(5):6311-6318.
- [20] Mukherjee A, Das B. The role of inflammatory mediators and matrix metalloproteinases (MMPs) in the progression of osteoarthritis [J]. Biomater Biosyst, 2024, 13: 100090.
- [21] 余光书,林焱斌,王松清,等.血管内皮生长因子介导的血管

生成对膝骨性关节炎影响的研究进展 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2022, 30 (11): 85-88.

[22] Rothdiener M, Uynuk-Ool T, Südkamp N, et al. Human osteoarthritic chondrons outnumber patient- and joint-matched chondrocytes in hydrogel culture-Future application in

autologous cell-based OA cartilage repair? [J]. J Tissue Eng Regen Med, 2018, 12 (2): e1206-e1220.

[23] Vahedi P, Hosainzadegan H, Brazvan B, et al. Treatment of cartilage defects by Low-intensity pulsed ultrasound in a sheep model [J]. Cell Tissue Bank, 2021, 22 (3): 369-378.

• 基础研究 •

青娥丸调控 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 通路对成骨细胞凋亡的影响

刘合亮 林 煜 郑世雄 肖莉莉

【摘要】 目的 基于 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 信号通路探讨青娥丸含药血清对氧化应激诱导内质网应激凋亡成骨细胞系的保护作用及其作用机制。**方法** 30 只雄性 SD 大鼠随机分为生理盐水组和青娥丸组, 每组 15 只, 分别给予生理盐水和青娥丸灌胃干预, 连续 7 d, 腹主动脉取全血制备含药血清; 培养 UMR-106 细胞株, CCK-8 筛选青娥丸和 GSK2606414 最佳干预浓度, 细胞分为空白组、模型组、青娥丸组和抑制剂组, 进一步采用 10 μ mol/L 的 H₂O₂ 干预细胞 12 h 制备内质网应激模型, CCK-8 检测 4 组细胞的增殖活性, DCFH-DA 检测细胞活性氧 (ROS) 含量, Real-time PCR 和 Western blot 检测 PERK、eIF2 α 、ATF4、CHOP mRNA 和蛋白的相对表达量。**结果** 青娥丸含药血清最佳干预浓度为 10%, GSK2606414 最佳干预浓度为 4%, 此最佳干预浓度用于后续实验。H₂O₂ 干预后模型组细胞增殖活性显著降低, ROS 含量显著升高, PERK、eIF2 α 、ATF4、CHOP mRNA 和蛋白的相对表达量显著上调; 青娥丸组增殖活性增强, ROS 含量显著降低, PERK、eIF2 α 、ATF4、CHOP mRNA 和蛋白的相对表达量下调。**结论** 青娥丸含药血清可有效抑制成骨细胞系的内质网应激凋亡, 其作用机制可能与 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 信号通路相关。

【关键词】 绝经后骨质疏松症; 青娥丸; 内质网应激; PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 信号通路

【中图分类号】 R816.8 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1002-2600(2025)03-0066-06

Mechanism of Qing'E formula regulating PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP pathway and its impact on osteoblast apoptosis

LIU Heliang, LIN Yu, ZHENG Shixiong, XIAO Lili

Department of Orthopedics, Fuzhou Second General Hospital, Fuzhou, Fujian 350007, China

Corresponding author: ZHENG Shixiong, Email: 876514145@qq.com

【Abstract】 Objective To examine the protective effects and its mechanism of Qing'E formula serum on osteoblast apoptosis caused by oxidative stress-induced endoplasmic reticulum stress, focusing on the PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP signaling pathway. **Methods** Thirty male SD rats were randomly assigned to receive either normal saline or Qing'E formula via gavage for seven days to prepare drug-containing serum from abdominal aorta blood. UMR-106 cells were cultured, CCK-8 was selected for the optimal intervention concentration of Qing'E formula and GSK2606414. Cells were categorized into blank, model, Qing'E formula, and positive drug groups. The endoplasmic reticulum stress model was created by treating cells with 10 μ mol/L H₂O₂ for 12 hours. Cell proliferation was assessed using CCK-8, ROS levels were detected with DCFH-DA, and the expression levels

基金项目: 福州市卫健系统科技计划项目 (2021-S-wq20); 福建省科学自然基金项目 (2022J011318); 福建省卫生健康中青年骨干人才培养项目 (2020GGB046); 福建省科技创新平台项目 (福建省创伤骨科急救与康复临床医学研究中心, 2020Y2014)

作者单位: 福建省福州市第二总医院, 福州 350007

通信作者: 郑世雄, Email: 876514145@qq.com

DOI: 10.20148/j.fmj.2025.03.017