

黄芪甲苷通过 SIRT1/AP-1 信号轴调控软骨细胞氧化应激的机制研究

王桂宇 王建国 赖林 蒲萌 贾卓樾 刘琪

山西中医药大学基础医学院, 国家中医药管理局基因表达调控实验室, 山西晋中 030619

通信作者: 刘琪, Email: angle200644@126.com

【摘要】 **目的** 探讨黄芪甲苷(AS-IV)对白细胞介素-1 β (IL-1 β)诱导的SW1353细胞氧化损伤模型的保护作用及相关机制。**方法** 采用100 μ g/L IL-1 β 处理SW1353细胞48 h构建氧化损伤体外细胞模型,按随机数字表法分为空白对照组、模型组、AS-IV组、沉默信息调节因子1(SIRT1)组、过表达激活蛋白-1(AP-1)组、SIRT1+AP-1组;采用细胞增殖与毒性检测试剂盒8(CCK-8)筛选IL-1 β 最佳刺激浓度和时间以及AS-IV对骨关节炎(OA)治疗的最佳浓度和时间;运用慢病毒转染技术敲低SIRT1、过表达AP-1、敲低SIRT1+过表达AP-1;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组细胞中丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)含量;分别采用荧光定量反转录-聚合酶链反应(qRT-PCR)、蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测AP-1、SIRT1、凋亡相关蛋白Bax和Bcl-2、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶3(caspase-3)的mRNA和蛋白表达水平。**结果** 模型组CAT(kU/L: 7.64 \pm 2.36比26.98 \pm 2.05)、SOD(kU/L: 25.92 \pm 1.78比39.63 \pm 2.51)、GSH-Px(kU/L: 176.70 \pm 8.36比261.40 \pm 12.71)含量均明显低于空白对照组(均 P <0.05),而MDA含量明显高于空白对照组(μ mol/L: 13.52 \pm 2.88比6.24 \pm 0.37, P <0.05)。加入AS-IV后,与模型组比较,AS-IV组CAT(kU/L: 24.82 \pm 2.49比7.64 \pm 2.36)、SOD(kU/L: 38.56 \pm 2.25比25.92 \pm 1.78)、GSH-Px(kU/L: 231.40 \pm 20.11比176.70 \pm 8.36)含量均明显升高(均 P <0.05),MDA含量明显降低(μ mol/L: 7.12 \pm 1.00比13.52 \pm 2.88, P <0.05),且AS-IV能有效抑制SW1353细胞凋亡,下调AP-1的蛋白表达(AP-1/Tubulin: 0.39 \pm 0.03比1.11 \pm 0.06, P <0.05),同时上调SIRT1的蛋白表达(SIRT1/Tubulin: 1.34 \pm 0.11比1.06 \pm 0.12, P <0.05)。在此基础上敲低SIRT1,过表达AP-1以及敲低SIRT1+过表达AP-1后,与AS-IV组比较,SIRT1组、AP-1组及SIRT1+AP-1组CAT(kU/L: 5.32 \pm 1.22、5.93 \pm 2.11、4.13 \pm 1.93比24.82 \pm 2.49)、SOD(kU/L: 25.19 \pm 1.18、26.02 \pm 2.04、21.02 \pm 1.56比38.56 \pm 2.25)、GSH-Px(kU/L: 181.40 \pm 12.71、175.50 \pm 10.40、148.00 \pm 16.64比231.40 \pm 20.11)含量均明显降低(均 P <0.05),MDA含量均增加(μ mol/L: 13.83 \pm 2.51、16.85 \pm 2.74、45.00 \pm 1.66比7.12 \pm 1.00,均 P <0.05),而AP-1、Bax、caspase-3的mRNA和蛋白表达水平均明显升高[AP-1 mRNA表达($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 4.93 \pm 0.25、5.30 \pm 0.57、6.10 \pm 0.18比1.53 \pm 0.42, AP-1蛋白表达(AP-1/Tubulin): 1.11 \pm 0.04、1.18 \pm 0.10、1.60 \pm 0.09比0.39 \pm 0.03; Bax mRNA表达($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 4.60 \pm 0.43、4.76 \pm 0.63、6.16 \pm 0.53比1.49 \pm 0.45, Bax蛋白表达(Bax/Tubulin): 0.80 \pm 0.11、0.92 \pm 0.06、1.48 \pm 0.10比0.43 \pm 0.08; caspase-3 mRNA表达($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 7.27 \pm 0.90、7.12 \pm 1.09、9.38 \pm 0.58比1.20 \pm 0.35, caspase-3蛋白表达(caspase-3/Tubulin): 0.75 \pm 0.11、0.79 \pm 0.06、1.02 \pm 0.11比0.48 \pm 0.04,均 P <0.05], SIRT1和Bcl-2的mRNA及蛋白表达水平均明显下降[SIRT1 mRNA表达($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.64 \pm 0.09、0.63 \pm 0.05、0.28 \pm 0.06比0.86 \pm 0.05, SIRT1蛋白表达(SIRT1/Tubulin): 0.94 \pm 0.05、0.97 \pm 0.07、0.26 \pm 0.06比1.34 \pm 0.11; Bcl-2 mRNA表达($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.38 \pm 0.04、0.43 \pm 0.05、0.18 \pm 0.08比0.70 \pm 0.09, Bcl-2蛋白表达(Bcl-2/Tubulin): 0.76 \pm 0.06、0.80 \pm 0.07、0.34 \pm 0.06比1.15 \pm 0.08,均 P <0.05]。**结论** AS-IV能够保护IL-1 β 诱导的SW1353细胞氧化损伤,改善SW1353细胞凋亡,其作用机制可能与其激活SIRT1/AP-1信号通路有关。

【关键词】 黄芪甲苷; 氧化损伤; 凋亡; 沉默信息调节因子1/激活蛋白-1信号通路

基金项目: 山西省中医药管理局山西中医药大学方药配伍及功用重点研究室开放课题(zyyys2024023); 山西中医药大学科技创新能力培育计划(2024PY-JL-9-01, 2024PY-JL-9-02); 山西中医药大学杏林英才计划项目(2025XJ01)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2026.02.014

Study on the mechanism of astragaloside IV regulating oxidative stress in chondrocytes via the sirtuin 1/activator protein-1 signaling axis

Wang Guiyu¹, Wang Jianguo¹, Lai Lin¹, Pu Meng¹, Jia Zhuoyue¹, Liu Qi¹

Shanxi University of Chinese Medicine, School of Basic Medical Sciences, National Administration of Traditional Chinese Medicine Gene Expression Regulation Laboratory, Jinzhong 030619, Shanxi, China

Corresponding author: Liu Qi, Email: angle200644@126.com

【Abstract】 Objective To explore the protective effect of astragaloside IV(AS-IV) on oxidative damage

model induced by interleukin-1 β (IL-1 β) in SW1353 cells and its underlying mechanisms. **Methods** The SW1353 cells were treated with 100 $\mu\text{g/L}$ IL-1 β for 48 hours to construct an *in vitro* cell model of oxidative damage. The cells were randomly divided into six groups: blank control, model, AS-IV, sirtuin 1 (SIRT1)-knockdown, activator protein-1 (AP-1)-overexpression, and SIRT1-knockdown+AP-1-overexpression. The optimal concentration and time for IL-1 β and the optimal concentration and time for AS-IV in the treatment of osteoarthritis (OA) were screened using the cell counting kit-8 (CCK-8) assay. SIRT1 knockdown and AP-1 overexpression were achieved by lentiviral transfection. The contents of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GSH-Px) in each group of cells were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The mRNA and protein expressions of AP-1, SIRT1, Bax, Bcl-2, and caspase-3 were detected by quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blotting, respectively. **Results** The contents of CAT (kU/L: 7.64 ± 2.36 vs. 26.98 ± 2.05), SOD (kU/L: 25.92 ± 1.78 vs. 39.63 ± 2.51), and GSH-Px (kU/L: 176.70 ± 8.36 vs. 261.40 ± 12.71) in the model group were significantly lower than those in the blank control group (all $P < 0.05$), while the content of MDA was significantly higher ($\mu\text{mol/L}$: 13.52 ± 2.88 vs. 6.24 ± 0.37 , $P < 0.05$). After the addition of AS-IV, compared with the model group, the contents of CAT (kU/L: 24.82 ± 2.49 vs. 7.64 ± 2.36), SOD (kU/L: 38.56 ± 2.25 vs. 25.92 ± 1.78), and GSH-Px (kU/L: 231.40 ± 20.11 vs. 176.70 ± 8.36) in the AS-IV group were significantly increased (both $P < 0.05$), and the content of MDA ($\mu\text{mol/L}$: 7.12 ± 1.00 vs. 13.52 ± 2.88 , $P < 0.05$) was significantly decreased. Moreover, AS-IV could effectively inhibit the apoptosis of SW1353 cells, down-regulate the protein expression of AP-1 (AP-1/Tubulin: 0.39 ± 0.03 vs. 1.11 ± 0.06 , $P < 0.05$), and up-regulate the protein expression of SIRT1 (SIRT1/Tubulin: 1.34 ± 0.11 vs. 1.06 ± 0.12 , $P < 0.05$). After reducing SIRT1 knockdown, AP-1 overexpression, and combined SIRT1 knockdown with AP-1 overexpression, compared with the AS-IV group, the contents of CAT (kU/L: 5.32 ± 1.22 , 5.93 ± 2.11 , 4.13 ± 1.93 vs. 24.82 ± 2.49), SOD (kU/L: 25.19 ± 1.18 , 26.02 ± 2.04 , 21.02 ± 1.56 vs. 38.56 ± 2.25), and GSH-Px (kU/L: 181.40 ± 12.71 , 175.50 ± 10.40 , 148.00 ± 16.64 vs. 231.40 ± 20.11) in the SIRT1 group, AP-1 group, and SIRT1+AP-1 group were significantly decreased (all $P < 0.05$), while the MDA content increased ($\mu\text{mol/L}$: 13.83 ± 2.51 , 16.85 ± 2.74 , 45.00 ± 1.66 vs. 7.12 ± 1.00 , all $P < 0.05$), and the mRNA and protein expression levels of AP-1, Bax, and caspase-3 were significantly increased [AP-1 mRNA expression ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 4.93 ± 0.25 , 5.30 ± 0.57 , 6.10 ± 0.18 vs. 1.53 ± 0.42 , AP-1 protein expression (AP-1/Tubulin): 1.11 ± 0.04 , 1.18 ± 0.10 , 1.60 ± 0.09 vs. 0.39 ± 0.03 ; Bax mRNA expression ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 4.60 ± 0.43 , 4.76 ± 0.63 , 6.16 ± 0.53 vs. 1.49 ± 0.45 , Bax protein expression (Bax/Tubulin): 0.80 ± 0.11 , 0.92 ± 0.06 , 1.48 ± 0.10 vs. 0.43 ± 0.08 ; caspase-3 mRNA expression ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 7.27 ± 0.90 , 7.12 ± 1.09 , 9.38 ± 0.58 vs. 1.20 ± 0.35 , caspase-3 protein expression (caspase-3/Tubulin): 0.75 ± 0.11 , 0.79 ± 0.06 , 1.02 ± 0.11 vs. 0.48 ± 0.04 , all $P < 0.05$], while the mRNA and protein expression levels of SIRT1 and Bcl-2 were significantly decreased (SIRT1 mRNA expression ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.64 ± 0.09 , 0.63 ± 0.05 , 0.28 ± 0.06 vs. 0.86 ± 0.05 , SIRT1 protein expression (SIRT1/Tubulin): 0.94 ± 0.05 , 0.97 ± 0.07 , 0.26 ± 0.06 vs. 1.34 ± 0.11 ; Bcl-2 mRNA expression ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.38 ± 0.04 , 0.43 ± 0.05 , 0.18 ± 0.08 vs. 0.70 ± 0.09 , Bcl-2 protein expression (Bcl-2/Tubulin): 0.76 ± 0.06 , 0.80 ± 0.07 , 0.34 ± 0.06 vs. 1.15 ± 0.08 , all $P < 0.05$). **Conclusion** AS-IV can protect SW1353 cells from oxidative damage induced by IL-1 β and alleviate cell apoptosis, the mechanism of its action may be related to its activation of the SIRT1/AP-1 signaling pathway.

【Key words】 Astragaloside IV; Oxidative damage; Apoptosis; Sirtuin 1/activator protein-1 signaling pathway

Fund program: The Open Research Project of the Key Laboratory of Formula and Function of Traditional Chinese Medicine, Shanxi University of Chinese Medicine and Shanxi Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine (zyyyis2024023); Scientific and Technological Innovation Capacity Cultivation Program of Shanxi University of Chinese Medicine (2024PY-JL-9-01, 2024PY-JL-9-02); Xinglin Talent Project of Shanxi University of Chinese Medicine (2025XJ01)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2026.02.014

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是全球中老年人群致残的首要原因之一^[1], 以关节软骨进行性退变、滑膜慢性炎症及软骨下骨重塑为核心病理特征^[2], 其病程呈慢性进展特性, 但临床上常见因外伤、过度负重、炎症因子骤升等诱因引发的 OA 急性加重事件, 如软骨急性损伤、关节剧烈肿痛、功能失代偿^[3]。这类急性事件不仅直接导致患者生活质量下降, 更会通过触发“氧化应激风暴”加速软骨细胞不可逆凋亡和细胞外基质降解, 因此 OA 的急性损伤

急救与慢性病程调控成为临床亟待突破的双重难题。

氧化应激失衡是 OA 慢性进展与急性加重的共同核心驱动机制。在生理状态下, 软骨细胞内氧化与抗氧化系统处于动态平衡, 而当关节微环境受急性损伤、炎症刺激等因素影响时, 活性氧大量蓄积, 最终引发软骨细胞功能衰竭。目前, 氧化应激已被确定为包括 OA 在内的各种疾病进展中的一个显著因素^[4]。越来越多的研究表明, 抗氧化剂可以减轻 OA 的严重程度^[5], 但关于抗氧化剂对关节组织

中软骨的保护机制仍有待进一步验证。因此,本研究从氧化应激入手,探讨治疗 OA 的药物和方法,为 OA 急救干预提供新的思路和方向。

黄芪在《神农本草经》中被列为上品,具有补气升阳、固表止汗、利水消肿等功效^[6]。现代药理学研究表明,黄芪有抗氧化、抗炎、抗凋亡等广泛的药理学活性^[7]。黄芪甲苷(astragaloside IV, AS-IV)作为黄芪的主要活性成分^[8],其抗氧化作用更为显著。研究表明,AS-IV能直接清除羟基自由基、超氧阴离子等自由基,还可上调细胞内抗氧化蛋白的表达,增强细胞抗氧化能力,从而在一定程度上减缓 OA 的发展进程,起到一定的治疗效果。鉴于 OA 发病与氧化应激密切相关,而 AS-IV 有明确的抗氧化特性,因此,本实验基于体外模型设计,选用白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 诱导的人软骨瘤细胞 SW1353 氧化损伤模型,探讨 AS-IV 对氧化应激所致骨关节损伤的保护作用及分子机制,从而为阐明 AS-IV 的抗 OA 作用机制提供理论依据,为 OA 急性加重的急诊干预开辟新方向,也为开发基于传统中药的 OA 治疗策略提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 主要材料: ① 实验细胞: SW1353 细胞株系购自福建省海星生物科技有限公司。② 实验设备: 德国 WIGGENS 公司生产的二氧化碳细胞培养箱(WCI-180),超净工作台由上海博讯医疗生物仪器股份有限公司提供(SW-CJ-2D)。日本 Nikon 倒置荧光显微镜(Eclipse Ts2R)。美国 Thermo Scientific 生产的 1550 型酶标仪、ProFlex 反转录-聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 仪及 QuantStudio 5 荧光定量 PCR 仪。③ 药品与试剂: AS-IV、IL-1 β 均购自上海麦克林生化科技股份有限公司;细胞增殖与毒性检测试剂盒 8 (cell counting kit-8, CCK-8) 购自大连博格林生物技术有限公司;慢病毒购自海星检测技术(太仓)有限公司;丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;实时荧光定量 PCR 试剂盒、反转录试剂盒均购自北京聚合美生物科技有限公司;全蛋白提取试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;激活蛋白-1(activator protein-1, AP-1) 抗体、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3(caspase-3) 抗体、凋亡相关蛋

白 Bax 抗体均购自武汉三鹰生物技术有限公司;沉默信息调节因子 1(sirtuin 1, SIRT1) 抗体购自江苏 Affinity 公司;Bcl-2 抗体购自杭州华安生物技术有限公司。

1.2 采用 CCK-8 筛选 IL-1 β 最佳制模浓度和时间: 将 SW1353 细胞接种于 96 孔板上,再将 IL-1 β 母液稀释成 0、10、20、50、100 $\mu\text{g/L}$ 的不同浓度梯度处理细胞,分别培养 12、24、48 h 加入 CCK-8 试剂,避光孵育 1 h 后检测 450 nm 处吸光度(absorbance, A) 值,测定后进行统计学分析,筛选出 IL-1 β 构建氧化损伤模型的最佳浓度及时间。

1.3 采用 CCK-8 筛选 AS-IV 治疗 OA 的最佳浓度和时间: 将已配置好的 AS-IV 母液稀释成 0、50、100、200 mmol/L 的不同浓度梯度。将 SW1353 细胞分为空白对照组、模型组和给药组。待细胞贴壁后,弃去上层培养基,空白对照组更换空白培养基,模型组和给药组更换含 100 $\mu\text{g/L}$ IL-1 β 的培养基,给药组培养基内同时加入不同浓度的 AS-IV,分别在干预 12、24、48 h 加入 CCK-8 试剂,避光孵育 1 h 后检测 450 nm 处 A 值,以筛选 AS-IV 治疗 OA 的最佳浓度和时间。

1.4 构建稳定敲低 SIRT1/ 过表达 AP-1/ 敲低 SIRT1+ 过表达 AP-1 的 SW1353 细胞株: ① 筛选慢病毒对细胞的最佳感染复数(multiplicity of infection, MOI): 取 SW1353 细胞接种于 6 孔板中,每孔 3×10^5 个。按照 MOI 为 5、10、25 分别稀释敲低 SIRT1 和 AP-1 病毒。更换培养基并加入病毒,感染 72 h 后在荧光倒置显微镜下观察细胞,同时将细胞分为空白对照组、阴性对照组以及慢病毒转染组,采用荧光定量 RT-PCR (quantitative RT-PCR, qRT-PCR) 验证敲低 SIRT1 与过表达 AP-1 的转染效率,从而确定慢病毒对细胞的 MOI。② 慢病毒转染: 敲低 SIRT1/ 过表达 AP-1: 取 SW1353 细胞,当细胞生长密度达到 80% 时消化并重悬。将所得细胞按每孔 3×10^5 个接种到 6 孔板中。于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温孵育箱中培养 24 h,待细胞贴壁后弃去原有培养基,每孔加入 1 mL 慢病毒稀释液。再次将培养板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱内孵育 24 h 后弃去含病毒的培养基,更换为 2 mL 含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,培养 48 h 后,加入嘌呤霉素进行筛选,提高慢病毒的转染效率。

1.5 研究分组: 将 SW1353 细胞分为空白对照组(采用完全培养基培养)、模型组(加入 100 $\mu\text{g/L}$ IL-1 β)、AS-IV 组(加入 100 $\mu\text{g/L}$ IL-1 β +200 mmol/L

AS-IV)、敲低 SIRT1 组(SIRT1 组, 加入 100 μg/L IL-1β+200 mmol/L AS-IV+ 敲低 SIRT1 慢病毒)、过表达 AP-1 组(AP-1 组, 加入 100 μg/L IL-1β+200 mmol/L AS-IV+ 过表 AP-1 慢病毒)、敲低 SIRT1+ 过表达 AP-1 组(SIRT1 组 +AP-1 组, 加入 100 μg/L IL-1β+200 mmol/L AS-IV+ 敲低 SIRT1 慢病毒 + 过表 AP-1 慢病毒)。

1.6 伦理学: 本研究符合医学伦理学标准, 并通过山西中医药大学实验动物伦理委员会审核批准(审批号: 2021DW131)。

1.7 检测指标及方法

1.7.1 采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测各组细胞中 MDA、SOD、CAT、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase GSH-Px) 的含量: 各组 SW1353 细胞培养 24 h 后, 去除上清液, 用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS) 洗涤 3 次。随后以 0.25% 胰酶消化细胞, 1 000 r/min(离心半径 10 cm) 离心 6 min。弃上清液, 加入适量放射免疫沉淀法裂解缓冲液(radio immunoprecipitation assay lysis buffer, RIPA) 及蛋白酶抑制剂, 与细胞沉淀混合。混合物置于冰上裂解 30 min, 再通过冰上超声处理破碎细胞。之后在 4 ℃、10 000 r/min(离心半径 10 cm) 条件下离心 10 min, 收集上清液。采用 ELISA 测定各组细胞中 MDA、CAT、SOD 和 GSH-Px 的含量, 操作严格按试剂盒说明书进行。

1.7.2 采用 qRT-PCR 检测各组细胞中 Bax、Bcl-2、caspase-3、AP-1 和 SIRT1 的 mRNA 表达水平: 收集各组 SW1353 细胞, 用细胞 RNA 快速提取试剂盒获得总 RNA, 并通过紫外分光光度仪测定其浓度与纯度。随后采用反转录试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA, 进一步实施扩增反应。最终根据 2^{-ΔΔCt} 法计算出各组细胞凋亡相关蛋白 Bax 和 Bcl-2 及 caspase-3、AP-1、SIRT1 的 mRNA 表达水平。

1.7.3 采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting) 检测各组细胞中 Bax、Bcl-2、caspase-3、AP-1、SIRT1 的蛋白表达水平: 收集各组 SW1353 细胞, 加入 RIPA 裂解液及蛋白酶抑制剂, 置于冰上裂解 30 min。随后在 4 ℃、10 000 r/min(离心半径 10 cm) 离心 15 min, 提取各组细胞总蛋白。使用二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA) 法测定蛋白质浓度, 加入加载缓冲液后煮沸 10 min 制备蛋白样品。制胶后进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺

凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE), 将等量蛋白(40 μg) 湿转至聚偏二氟乙烯(polyvinylidene difluoride, PVDF) 膜上。用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 加入含吐温-20 的三羟甲基氨基甲烷缓冲盐水(Tris-Buffered Saline with Tween-20, TBST) 稀释的一抗并于 4 ℃ 孵育过夜。次日用 TBST 洗涤 3 次, 再加入相应种属的二抗, 室温孵育 2 h, TBST 漂洗 3 次后加入电化学发光(electrochemiluminescent immunoassay, ECL) 显影液进行曝光, 通过荧光成像系统扫描条带。运用 Image J 软件分析条带灰度值, 以目的蛋白与内参微管蛋白(Tubulin) 蛋白灰度的比值表示目标蛋白的表达水平。

1.8 统计学分析: 使用 GraphPad Prism 8.0.2 软件完成数据的统计处理及图表绘制, 符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$) 表示。多组间比较采用单因素方差分析, 不同组间两两比较选用 Tukey's HSD 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-1β 诱导 SW1353 细胞氧化损伤模型的最佳浓度及时间(表 1): 用不同浓度 IL-1β 分别处理 SW1353 细胞 12、24、48 h 后, 细胞活性均呈明显下降(P<0.05), 且细胞活性的下降与 IL-1β 浓度密切相关, 其中浓度为 100 μg/L、作用时间 48 h 对 SW1353 细胞活性影响最明显(P<0.05)。故选取 100 μg/L、作用 48 h IL-1β 进行后续实验。

IL-1β 浓度 (μg/L)	时间	样本数 (孔)	SW1353 细胞的活性 (A 值)
0	制模后 12 h	3	106.00 ± 4.41
	制模后 24 h	3	100.30 ± 2.39
	制模后 48 h	3	100.00 ± 7.77
10	制模后 12 h	3	97.08 ± 4.60
	制模后 24 h	3	92.00 ± 7.70
	制模后 48 h	3	90.38 ± 6.63
20	制模后 12 h	3	93.42 ± 5.60 ^a
	制模后 24 h	3	85.83 ± 7.93
	制模后 48 h	3	80.53 ± 6.37 ^a
50	制模后 12 h	3	86.85 ± 4.95 ^a
	制模后 24 h	3	80.31 ± 8.50 ^a
	制模后 48 h	3	76.28 ± 5.16 ^a
100	制模后 12 h	3	84.00 ± 6.11 ^a
	制模后 24 h	3	76.74 ± 7.98 ^a
	制模后 48 h	3	67.30 ± 6.23 ^a

注: 与 IL-1β 0 μg/L 同期比较, ^aP<0.05

2.2 AS-IV治疗OA的最佳浓度和时间(表2~3):模型组 IL-1 β 作用 12、24、48 h SW1353 细胞增殖活性明显降低(均 $P < 0.05$),表明模型制备成功。用不同浓度 AS-IV 分别处理细胞 12、24、48 h 后,细胞活性均呈明显升高(均 $P < 0.05$),且细胞活性的上升与 AS-IV 的浓度密切相关,其中浓度为 200 mmol/L、作用时间 48 h 对 SW1353 细胞活性的影响最明显($P < 0.01$)。故选取 200 mmol/L AS-IV、作用 48 h 进行后续实验。

组别	时间	样本数 (孔)	SW1353 细胞的活性(A 值)
空白对照组	培养 12 h	3	99.94 \pm 1.58
	培养 24 h	3	100.00 \pm 2.76
	培养 48 h	3	106.20 \pm 4.51
模型组	制模后 12 h	3	80.69 \pm 5.95 ^a
	制模后 24 h	3	72.00 \pm 4.24 ^a
	制模后 48 h	3	68.30 \pm 7.58 ^a

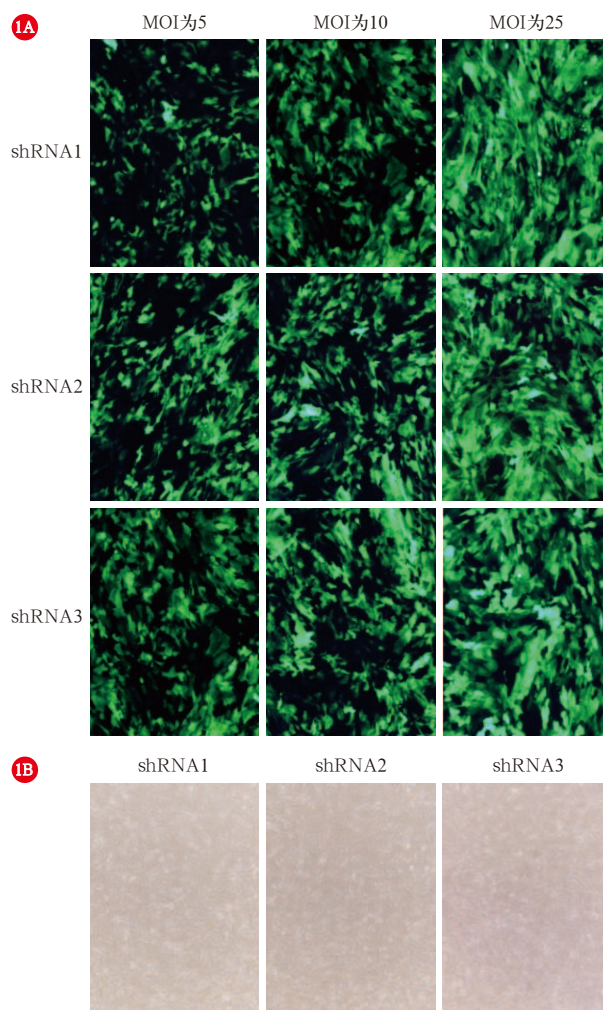
注:与空白对照组同期比较,^a $P < 0.05$

AS-IV 浓度 (mmol/L)	时间	样本数 (孔)	SW1353 细胞的活性(A 值)
0	制模后 12 h	3	80.69 \pm 5.95
	制模后 24 h	3	72.00 \pm 4.24
	制模后 48 h	3	68.30 \pm 7.58
25	制模后 12 h	3	83.61 \pm 4.26
	制模后 24 h	3	79.33 \pm 3.86
	制模后 48 h	3	76.67 \pm 6.92
50	制模后 12 h	3	88.95 \pm 3.51
	制模后 24 h	3	82.88 \pm 3.26
	制模后 48 h	3	81.67 \pm 7.51
100	制模后 12 h	3	92.45 \pm 3.04 ^a
	制模后 24 h	3	90.33 \pm 6.21 ^a
	制模后 48 h	3	88.61 \pm 4.69 ^a
200	制模后 12 h	3	93.93 \pm 4.61 ^a
	制模后 24 h	3	93.61 \pm 2.95 ^a
	制模后 48 h	3	101.60 \pm 5.41 ^a

注:与 0 mmol/L AS-IV 浓度同期比较,^a $P < 0.05$

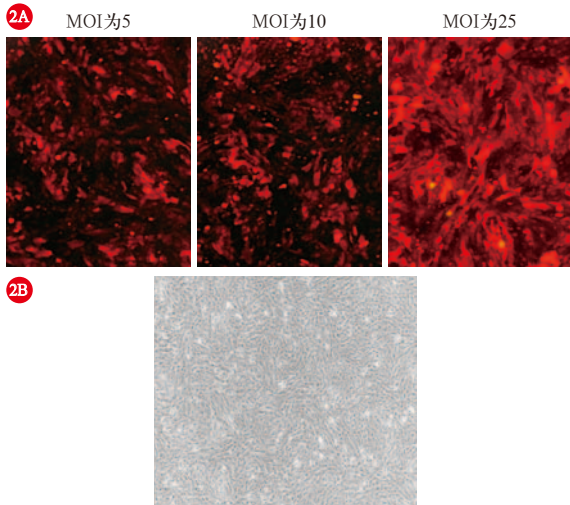
2.3 敲低 SIRT1/ 过表达 AP-1 慢病毒转染情况(图 1~3):用慢病毒转染 72 h 后,综合细胞状态、病毒滴度及荧光强度等因素可见,在 MOI 为 25 时,敲低 SIRT1 及过表达 AP-1 慢病毒转染效果最佳,故选取 MOI 为 25 进行后续实验。以 MOI 为 25 的慢病毒转染细胞敲低 SIRT1/ 过表达 AP-1 后,qRT-PCR 检测结果显示,慢病毒转染短发夹 RNA (short hairpin RNA, shRNA1、shRNA2、shRNA3) 组 SIRT1 mRNA 表达水平显著低于空白对照组和阴性对照

组($2^{-\Delta\Delta Ct}$: 0.29 \pm 0.09、0.96 \pm 0.03、0.30 \pm 0.06 比 0.97 \pm 0.04、0.96 \pm 0.03,均 $P < 0.05$),表明慢病毒介导的转染可发挥作用,让 SIRT1 mRNA 表达下调,且不同 shRNA 序列敲低效果相近,均能实现较高效的基因敲低,可用于后续实验;慢病毒转染 AP-1 组 AP-1 mRNA 表达水平显著高于空白对照组和阴性对照组($2^{-\Delta\Delta Ct}$: 17.07 \pm 0.81 比 1.00 \pm 0.41、0.98 \pm 0.38,均 $P < 0.05$),表明慢病毒介导的转染能有效将 AP-1 基因导入并实现过表达,转染效率良好,可用于后续实验。基于以上实验,对已实现 SIRT1 稳定敲低的细胞,按 MOI 为 25 加入携带 AP-1 过表达载体的慢病毒,培养 48 h 后,加入嘌呤霉素进行筛选,感染 72 h 后在荧光倒置显微镜下观察细胞荧光强度,即可获得敲低 SIRT1 与过表达 AP-1 共同转染的细胞株。



注: A 为敲低 SIRT1 慢病毒转染 SW1353 细胞不同 MOI 下的转染结果(中倍放大); B 为 MOI=25 时,明视野下敲低 SIRT1 慢病毒转染 SW1353 细胞株的生长状态(低倍放大)

图 1 荧光显微镜下观察敲低 SIRT1 慢病毒转染 SW1353 细胞的转染情况



注：A 为过表达 AP-1 慢病毒转染 SW1353 细胞不同 MOI 下的转染结果（中倍放大）；B 为 MOI=25 时，明视野下过表达 AP-1 慢病毒转染 SW1353 细胞株的生长状态（低倍放大）

图 2 荧光显微镜下观察过表达 AP-1 慢病毒转染 SW1353 细胞的转染情况

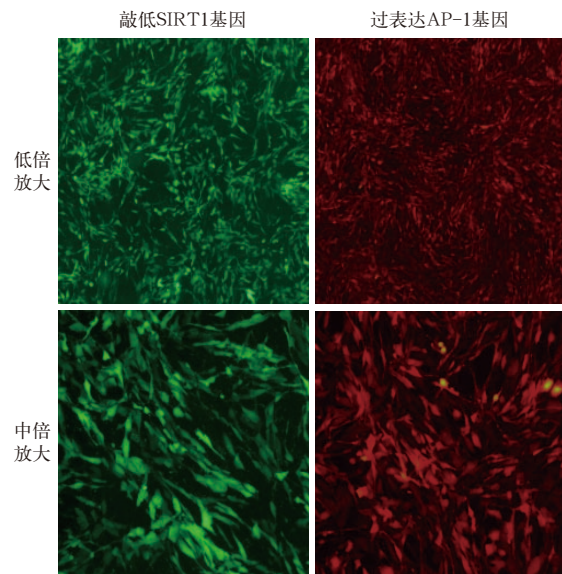


图 3 荧光显微镜下观察过表达 AP-1 和敲低 SIRT1 慢病毒转染 SW1353 细胞情况

2.4 AS-IV对 IL-1 β 诱导的 SW1353 细胞氧化损伤相关因子的影响(表 4):模型组 CAT、SOD 及 GSH-Px 含量均明显低于空白对照组,而 MDA 含量明显高于空白对照组(均 $P < 0.05$),表明成功建立了氧化损伤模型。加入 AS-IV 后, CAT、SOD、GSH-Px 含量均明显升高,MDA 含量明显降低(均 $P < 0.05$),表明 AS-IV 可以抑制氧化应激反应。在此基础上敲低 SIRT1 和过表达 AP-1 以及敲低 SIRT1+ 过

表达 AP-1 后, CAT、SOD、GSH-Px 含量均明显降低,MDA 含量均明显升高(均 $P < 0.05$),说明敲低 SIRT1 基因可一定程度上削弱抗氧化能力, SIRT1 可能与抗氧化酶活性有关;也可说明过表达 AP-1 或许会加重氧化损伤,干扰抗氧化系统,从而对骨关节产生一定程度的损坏;此外, SIRT1+AP-1 组中 MDA 含量进一步升高(均 $P < 0.05$),二者联合加重氧化损伤程度,说明 AS-IV 可以保护 SW1353 细胞免于氧化损伤,此过程还可能与 SIRT1/AP-1 信号通路有关。

表 4 各组细胞 CAT、SOD、GSH-PX 及 MDA 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数 (孔)	CAT (kU/L)	SOD (kU/L)
空白对照组	3	26.98 \pm 2.05	39.63 \pm 2.51
模型组	3	7.64 \pm 2.36 ^a	25.92 \pm 1.78 ^a
AS-IV 组	3	24.82 \pm 2.49 ^b	38.56 \pm 2.25 ^b
SIRT1 组	3	5.32 \pm 1.22 ^c	25.19 \pm 1.18 ^c
AP-1 组	3	5.93 \pm 2.11 ^c	26.02 \pm 2.04 ^c
SIRT1+AP-1 组	3	4.13 \pm 1.93 ^c	21.02 \pm 1.56 ^c

组别	样本数 (孔)	GSH-Px (kU/L)	MDA (μ mmol/L)
空白对照组	3	261.40 \pm 12.71	6.24 \pm 0.37
模型组	3	176.70 \pm 8.36 ^a	13.52 \pm 2.88 ^a
AS-IV 组	3	231.40 \pm 20.11 ^b	7.12 \pm 1.00 ^b
SIRT1 组	3	181.40 \pm 12.71 ^c	13.83 \pm 2.51 ^c
AP-1 组	3	175.50 \pm 10.40 ^c	16.85 \pm 2.74 ^c
SIRT1+AP-1 组	3	148.00 \pm 16.64 ^c	45.00 \pm 1.66 ^c

注：与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$; 与 AS-IV 组比较, ^c $P < 0.05$

2.5 AS-IV对 IL-1 β 诱导的 SW1353 细胞中 AP-1/SIRT1 信号通路 mRNA 和蛋白表达水平的影响(表 5~6; 图 4):qRT-PCR 和 Western blotting 检测结果显示,模型组 AP-1、Bax、caspase-3 的 mRNA 和蛋白表达水平均明显高于空白对照组,加入 AS-IV 后明显下降(均 $P < 0.05$),在此基础上敲低 SIRT1、过表达 AP-1 及敲低 SIRT1+ 过表达 AP-1 后,其表达水平呈明显上升趋势(均 $P < 0.05$);而模型组 SIRT1 和 Bcl-2 的 mRNA 和蛋白表达水平均显著低于空白对照组,加入 AS-IV 后明显升高,在此基础上敲低 SIRT1、过表达 AP-1 及敲低 SIRT1+ 过表达 AP-1 后,其 mRNA 和蛋白表达水平均明显下降(均 $P < 0.05$)。表明 AS-IV 可通过激活 SIRT1/AP-1 通路来保护 SW1353 细胞免于氧化损伤,抑制细胞凋亡,从而缓减 OA 急性发作期的症状。

表 5 各组细胞 AP-1、SIRT1、Bax、Bcl-2 及 caspase-3 的 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数 (孔)	AP-1 mRNA 表达 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	SIRT1 mRNA 表达 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	Bax mRNA 表达 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	Bcl-2 mRNA 表达 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	caspase-3 mRNA 表达 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)
空白对照组	3	1.03 ± 0.26	1.01 ± 0.04	1.04 ± 0.37	1.03 ± 0.05	1.36 ± 0.53
模型组	3	4.57 ± 0.43 ^a	0.59 ± 0.06 ^a	4.43 ± 0.27 ^a	0.47 ± 0.08 ^a	6.01 ± 0.63 ^a
AS-IV 组	3	1.53 ± 0.42 ^b	0.86 ± 0.05 ^b	1.49 ± 0.45 ^b	0.70 ± 0.09 ^b	1.20 ± 0.35 ^b
SIRT1 组	3	4.93 ± 0.25 ^c	0.64 ± 0.09 ^c	4.60 ± 0.43 ^c	0.38 ± 0.04 ^c	7.27 ± 0.90 ^c
AP-1 组	3	5.30 ± 0.57 ^c	0.63 ± 0.05 ^c	4.76 ± 0.63 ^c	0.43 ± 0.05 ^c	7.12 ± 1.09 ^c
SIRT1+AP-1 组	3	6.10 ± 0.18 ^c	0.28 ± 0.06 ^c	6.16 ± 0.53 ^c	0.18 ± 0.08 ^c	9.38 ± 0.58 ^c

注：与空白对照组比较，^a $P < 0.05$ ；与模型组比较，^b $P < 0.05$ ；与 AS-IV 组比较，^c $P < 0.05$

表 6 各组细胞 AP-1、SIRT1、Bax、Bcl-2 及 caspase-3 的蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数 (孔)	AP-1 蛋白表达 (AP-1/Tubulin)	SIRT1 蛋白表达 (SIRT1/Tubulin)	Bax 蛋白表达 (Bax/Tubulin)	Bcl-2 蛋白表达 (Bcl-2/Tubulin)	caspase-3 蛋白表达 (AP-1/Tubulin)
空白对照组	3	0.32 ± 0.03	1.43 ± 0.05	0.29 ± 0.07	1.37 ± 0.04	0.33 ± 0.02
模型组	3	1.11 ± 0.06 ^a	1.06 ± 0.12 ^a	1.25 ± 0.09 ^a	0.99 ± 0.04 ^a	0.73 ± 0.08 ^a
AS-IV 组	3	0.39 ± 0.03 ^b	1.34 ± 0.11 ^b	0.43 ± 0.08 ^b	1.15 ± 0.08 ^b	0.48 ± 0.04 ^b
SIRT1 组	3	1.11 ± 0.04 ^c	0.94 ± 0.05 ^c	0.80 ± 0.11 ^c	0.76 ± 0.06 ^c	0.75 ± 0.11 ^c
AP-1 组	3	1.18 ± 0.10 ^c	0.97 ± 0.07 ^c	0.92 ± 0.06 ^c	0.80 ± 0.07 ^c	0.79 ± 0.06 ^c
SIRT1+AP-1 组	3	1.60 ± 0.09 ^c	0.26 ± 0.06 ^c	1.48 ± 0.10 ^c	0.34 ± 0.06 ^c	1.02 ± 0.11 ^c

注：与空白对照组比较，^a $P < 0.05$ ；与模型组比较，^b $P < 0.05$ ；与 AS-IV 组比较，^c $P < 0.05$



图 4 各组细胞中 AP-1、SIRT1、Bax、Bcl-2 及 caspase-3 的蛋白表达水平

3 讨论

OA 虽被定义为慢性退行性关节疾病^[9]，但其病程中存在明确的“急救相关场景”。临床上，OA 患者易因外伤、过度负重、感染等诱因触发急性加重，表现为关节剧烈肿痛、活动受限甚至功能失常，而当前临床急救手段仅以镇痛、抗炎为主，缺乏针对软骨损伤本质的修复性干预；在 OA 病理过程中，其急性加重的核心是氧化应激，关节微环境中活性氧短时间内大量蓄积，直接引发软骨细胞急性凋亡、基质降解。越来越多的研究表明，人类 OA 软骨和软骨细胞中的 ROS 水平明显上调，而软骨细胞中 ROS 的过度产生和氧化应激的诱导是 OA 发病机制的主要因素之一^[10]。因此，OA 的急救不仅是临床症状的应急处理，更是对软骨细胞急性氧化损伤的急救修复。

传统中医药中，黄芪归属于补虚药，可用于“急慢性痹证”的干预，对应现代医学中 OA 急慢性损伤的治疗需求，其药理学特性与 OA 急救需求高度

契合；现代药理学研究证实，AS-IV 具有强效的抗氧化、抗炎及细胞保护作用，且可通过调控信号通路实现对急性损伤的修复^[11]。本研究通过 IL-1 β 诱导 SW1353 软骨细胞构建体外氧化损伤模型，CCK-8 实验结果表明，IL-1 β 诱导后 SW1353 细胞增殖活性降低，而 AS-IV 可促进 SW1353 细胞的增殖，由此说明 AS-IV 可通过影响 SW1353 细胞的增殖与凋亡平衡状态，延缓 OA 的病程进展。ELISA 检测结果表明，IL-1 β 诱导后细胞内 MDA 含量增高，SOD、GSH-Px 和 CAT 含量降低；而加入 AS-IV 后细胞内 SOD、GSH-Px 和 CAT 含量升高，MDA 含量降低。综上所述，AS-IV 可显著降低 OA 急性氧化应激状态下软骨细胞的 ROS 水平，减少细胞凋亡，从而对 OA 急性症状起到一定缓解作用。

氧化应激反应与细胞凋亡有较为密切的联系，二者相互影响，共同参与调控细胞的生存状态^[12]。当细胞内 ROS 产生过多时，ROS 会攻击细胞内的生物分子，激活细胞内的凋亡信号通路，促使线粒体释放细胞色素，并且启动 caspases 级联反应，最终导致细胞凋亡。本研究显示，在 IL-1 β 诱导的氧化损伤模型中，Bax 和 caspase-3 的表达被显著激活，加入 AS-IV 后有效逆转了这一趋势。该作用不仅下调了促凋亡因子 Bax 与 caspase-3 的表达，而且还上调了抗凋亡因子 Bcl-2 的表达。说明 AS-IV 能借助抗氧化机制发挥作用，经其干预后，由 IL-1 β 诱导的 SW1353 细胞凋亡现象得到了显著改善。

氧化应激与细胞凋亡的调控过程中 AP-1 和 SIRT1 是关键分子靶点。AP-1 主要由 c-Fos 和 c-Jun (AP-1 转录因子的两个亚基) 的同源或异源二聚化形成^[13], 可被各种信号激活, 如生长因子、炎症细胞因子、氧化应激等, 在软骨和骨骼生理学过程中起着至关重要的作用。研究显示, CXC 型趋化因子配体 1 (CXC chemokine ligand 1, CXCL-1) 可通过调控 AP-1 的表达来缓解软骨细胞的炎症反应和氧化损伤^[14]。而风湿骨痛胶囊也可通过抑制 AP-1 的表达减轻 OA 的症状^[15]。SIRT1 是 NAD⁺ 依赖性蛋白脱乙酰化酶家族的成员, 由于其去乙酰化酶的能力, SIRT1 在软骨细胞中有明确的抗凋亡作用^[16], 尽管 SIRT1/AP-1 的相互作用既往尚未在 OA 软骨细胞中进行验证, 但已有研究表明, SIRT1 可以通过失活 AP-1 从而抑制椎间盘退变以及氧化应激损伤^[17], SIRT1 也可通过抑制 AP-1 的表达从而保护主动脉夹层损伤以及氧化应激损伤^[18]。基于上述情况, 本研究旨在探讨 AS-IV 是否通过 SIRT1/AP-1 信号通路发挥抗氧化及抗凋亡的作用, 从而明确其在 OA 急救中的调控作用。qRT-PCR 和 Western blotting 结果表明, IL-1 β 诱导的 SW1353 细胞中 AP-1、Bax 及 caspase-3 的 mRNA 和蛋白表达水平均升高, SIRT1 和 Bcl-2 的 mRNA 和蛋白表达水平均降低。而 AS-IV 干预后, AP-1、Bax 及 caspase-3 的 mRNA 和蛋白表达水平均呈下降趋势, SIRT1 和 Bcl-2 的 mRNA 和蛋白表达水平均呈上升趋势。为了阐明 AP-1 和 SIRT1 的相互作用, 证明 SIRT1/AP-1 通路是 AS-IV 调节氧化应激和细胞凋亡所必需的, 本研究运用了慢病毒转染技术敲低 SIRT1、过表达 AP-1、敲低 SIRT1+ 过表达 AP-1。结果显示, SIRT1 组、AP-1 组、SIRT1+AP-1 3 组中 AP-1、Bax 及 caspase-3 的 mRNA 和蛋白表达水平均显著增高, SIRT1 和 Bcl-2 的 mRNA 和蛋白表达水平均显著下降。此外, SIRT1 组、AP-1 组、SIRT1+AP-1 3 组抗氧化产物 CAT、SOD 及 GSH-Px 的含量明显降低, 氧化产物 MDA 含量明显升高。上述结果均表明, AS-IV 通过激活信号通路来调节氧化应激和细胞凋亡, 因此得出 AS-IV 是通过激活 SIRT1/AP-1 信号通路来发挥抗氧化和抗凋亡作用的结论。

综上所述, 本研究证实 AS-IV 通过 SIRT1/AP-1 信号轴调控软骨细胞氧化应激, 为 OA 急性加重的急诊干预提供了新的思路, 也为开发基于传统中药的 OA “急慢同治” 策略提供了实验依据, 有望为

AS-IV 在 OA 治疗中的应用提供实验支持, 为开发基于天然产物的 OA 治疗策略奠定理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Peng XL, Chen XN, Zhang YF, et al. Advances in the pathology and treatment of osteoarthritis [J]. *J Adv Res*, 2025, 78: 257–283. DOI: 10.1016/j.jare.2025.01.053.
- [2] Wood MJ, Miller RE, Malfait AM. The genesis of pain in osteoarthritis: inflammation as a mediator of osteoarthritis pain [J]. *Clin Geriatr Med*, 2022, 38 (2): 221–238. DOI: 10.1016/j.cger.2021.11.013.
- [3] Gutiérrez-González LA. Rheumatologic emergencies [J]. *Clin Rheumatol*, 2015, 34 (12): 2011–2019. DOI: 10.1007/s10067-015-2994-y.
- [4] Iantomasi T, Aurilia C, Donati S, et al. Oxidative stress, microRNAs, and long non-coding RNAs in osteoarthritis pathogenesis: cross-talk and molecular mechanisms involved [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26 (13): 6428. DOI: 10.3390/ijms26136428.
- [5] 熊山, 张程, 吴健梅, 等. 抗氧化剂在骨相关疾病中的应用研究进展 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2023, 29 (1): 139–144, 150. DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2023.01.027.
- [6] 林青华, 李芳婵, 谢孟姣, 等. 三痹汤关键信息考证 [J]. *中成药*, 2025, 27 (7): 2310–2315. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.027.
- [7] 邵长鑫, 林欢欢, 靳晓杰, 等. 黄芪的炮制历史沿革及现代研究进展 [J]. *中草药*, 2023, 54 (15): 5057–5074. DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.15.030.
- [8] Li S, Hu XP, Liu F, et al. Bioactive components and clinical potential of *Astragalus* species [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1585697. DOI: 10.3389/fphar.2025.1585697.
- [9] Siddiq M, Oo WM, Hunter DJ. New therapeutic strategies in osteoarthritis [J]. *Joint Bone Spine*, 2024, 91 (6): 105739. DOI: 10.1016/j.jbspin.2024.105739.
- [10] 陶叶龙, 范建波. 软骨细胞氧化应激在骨性关节炎中的作用机制及干预研究进展 [J]. *中国骨伤*, 2025, 38 (4): 434–440. DOI: 10.12200/j.issn.1003-0034.20240396.
- [11] Liang YT, Chen BQ, Liang D, et al. Pharmacological effects of astragaloside IV: a review [J]. *Molecules*, 2023, 28 (16): 6118. DOI: 10.3390/molecules28166118.
- [12] Cui TH, Lan Y, Lu YY, et al. Isoorientin ameliorates H₂O₂-induced apoptosis and oxidative stress in chondrocytes by regulating MAPK and PI3K/Akt pathways [J]. *Aging (Albany NY)*, 2023, 15 (11): 4861–4874. DOI: 10.18632/aging.204768.
- [13] Li F, Tian JQ, Zhang L, et al. A multi-omics approach to reveal critical mechanisms of activator protein 1 (AP-1) [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 178: 117225. DOI: 10.1016/j.biopha.2024.117225.
- [14] Lee KT, Chen BC, Liu SC, et al. Nesfatin-1 facilitates IL-1 β production in osteoarthritis synovial fibroblasts by suppressing miR-204-5p synthesis through the AP-1 and NF- κ B pathways [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13 (18): 22490–22501. DOI: 10.18632/aging.203559.
- [15] Hou SM, Chen PC, Lin CM, et al. CXCL1 contributes to IL-6 expression in osteoarthritis and rheumatoid arthritis synovial fibroblasts by CXCR2, c-Raf, MAPK, and AP-1 pathway [J]. *Arthritis Res Ther*, 2020, 22 (1): 251. DOI: 10.1186/s13075-020-02331-8.
- [16] Yan S, Dong W, Li Z, et al. Metformin regulates chondrocyte senescence and proliferation through microRNA-34a/SIRT1 pathway in osteoarthritis [J]. *J Orthop Surg Res*, 2023, 18 (1): 198. DOI: 10.1186/s13018-023-03571-5.
- [17] Cai WT, Guan P, Lin MX, et al. Sirt1 suppresses MCP-1 production during the intervertebral disc degeneration by inactivating AP-1 subunits c-Fos/c-Jun [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24 (11): 5895–5904. DOI: 10.26355/eurrev_202006_21482.
- [18] Zhang KF, Pan XD, Zheng J, et al. SIRT1 protects against aortic dissection by regulating AP-1/decorin signaling-mediated PDGF α activation [J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47 (3): 2149–2159. DOI: 10.1007/s11033-020-05314-9.

(收稿日期: 2026-01-29)

(责任编辑: 邸美仙)