

二甲双胍应用于骨关节炎治疗的研究进展

苏婧玥, 杨胜武, 邓桢翰

(温州医科大学附属第一医院骨科, 浙江 温州 325000)

摘要 骨关节炎(OA)作为运动系统常见的慢性退行性疾病,其致病机制至今尚未明晰,目前仍缺乏有效的治疗药物。二甲双胍作为治疗2型糖尿病的一线药物,主要作用于线粒体呼吸链复合物I,通过腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)或非AMPK途径发挥其降糖作用。在OA治疗中,二甲双胍通过多种分子途径展现出保护软骨和调节骨代谢作用,且对其他运动系统的作用机制也表明了二甲双胍在OA治疗中的潜力。本文综述了二甲双胍与OA的最新研究进展,总结其参与OA发生发展的机制,回顾其迄今为止的临床应用情况,综合分析二甲双胍治疗OA的潜在途径,以期对OA的预防和治疗提供新的见解和思路。

关键词 二甲双胍;骨关节炎;药理作用机制;临床应用

中图分类号:R684.3 **文献标识码:**A **文章编号:**2095-9664(2024)03-0073-08

Research progress of metformin in the treatment of osteoarthritis

SU Jingyue, YANG Shengwu, DENG Zhenhan

(Department of Orthopaedic Surgery, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, Zhejiang, China)

Corresponding author: DENG Zhenhan, Email: dengzhenhan@wmu.edu.cn

骨关节炎(osteoarthritis, OA)以软骨退变、骨赘生成、软骨下骨硬化和滑膜炎症为特征,是运动系统常见慢性退行性疾病。根据世界卫生组织数据统计,2019年全球约有5.28亿OA患者,且随着人口老龄化加剧及生活方式的改变,预计OA患病率将持续增加^[1]。OA至今仍无确切的治愈方法,临床上按其严重程度以阶梯方案进行治疗。在药物治疗方面,国际OA研究学会等组织发布的最新指导方案指出,非甾体类抗炎药和皮质类固醇目前可作为OA的一线治疗药物^[2-4],但主要是控制炎症、缓解疼痛,无法从根本治愈OA。指南之外,新兴的治疗药物也陆续出现。

二甲双胍长期以来作为2型糖尿病的一线口服药物,可减少肝脏葡萄糖合成和肠壁葡萄糖吸收,提高胰岛素敏感性和胰高血糖素样肽1水平^[5]。自二甲双胍的前身于山羊豆碱提取物中被发现至今已有一百多年的历史^[6],然而其在糖尿病治疗的临床应用直至1994年才被美国食品药品监督管理局

正式批准^[7-8]。除了胰岛素的出现,早期关于双胍类药物具有乳酸性酸中毒潜在风险的报道也限制了其使用^[9]。二甲双胍临床应用的安全性被证实后,后续研究又陆续发现了二甲双胍在肿瘤、心血管疾病、骨骼肌肉疾病等领域的价值^[10-11]。随着糖尿病作为OA独立危险因素的假设陆续得到流行病学研究的支持^[12],再加上糖尿病的危险因素“肥胖”同时也会增加OA的患病风险,研究者们考虑到二甲双胍作为OA治疗药物的可能性。近十年来,大量研究涌现以探索二甲双胍在OA中的作用及潜力。

目前,二甲双胍在治疗OA中的研究进展多是从抑制炎症、调节自噬和凋亡、抗氧化应激和减轻疼痛等作用方面阐述,而没有对其中的机制进行系统归纳总结。本文综述了二甲双胍与OA的最新研究进展,总结其参与OA发生发展的具体机制,回顾至今二甲双胍临床应用和联合用药情况,综合分析二甲双胍治疗OA的潜在方向,为OA的预防和治疗提供新的见解和思路。

1 二甲双胍及其作用机制

二甲双胍,即1,1-二甲基双胍,其化学式为

C₄H₁₁N₅,是一种亲水小分子药物,在生理情况下通常以带正电荷的质子化形式存在。1922年,研究人员在尝试调整山羊豆碱的化学结构时,首次人工合成二甲双胍。至今普遍认为,二甲双胍对线粒体的作用是其药理作用的基础。2000年,研究发现二甲双胍在线粒体上的作用位点位于呼吸链复合物 I,并且存在时间依赖性和剂量依赖性。膜电位缓慢驱动的正电荷药物在线粒体基质内的积累导致呼吸链复合体 I 的抑制,从而抑制电子跨膜流动和膜电位形成,降低线粒体氧耗,使氧化磷酸化生成三磷酸腺苷(ATP)受到抑制,腺苷酸(AMP)/ATP 比值升高^[13-14]。这种二甲双胍对复合物 I 的抑制作用不依赖于腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK),也不会被一氧化氮合成酶或活性氧清除剂影响^[13,15]。此外,二甲双胍与线粒体铜离子的结合可能也会影响其药物作用^[16]。最新研究报道,二甲双胍对巨噬细胞激活的干扰,可能与二甲双胍结合线粒体铜离子,从而干扰还原型辅酶 I 氧化还原循环有关^[17]。在非高浓度高剂量给药时,二甲双胍作用的发挥还需完整的细胞结构^[13]。但二甲双胍并不是所有的作用都由线粒体所介导。研究发现,二甲双胍可以

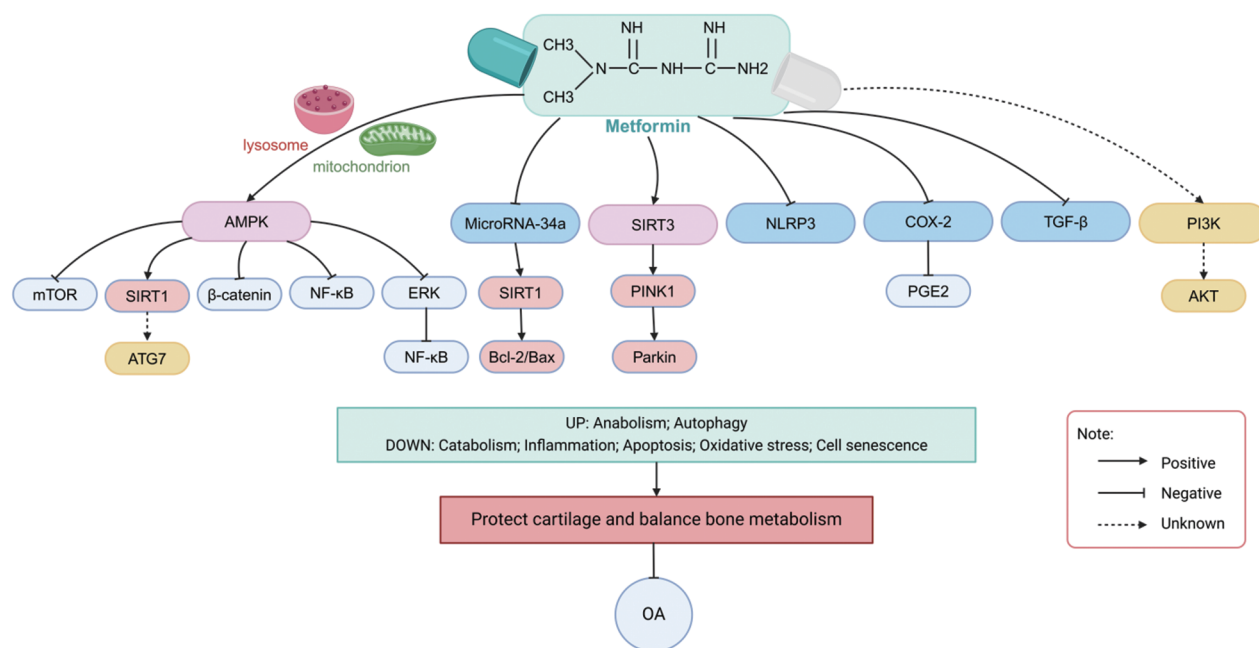
直接与早老素增强子 2 分子结合后,再进一步与溶酶体膜 ATP 酶 H⁺转运辅助蛋白质 1 结合形成复合物,抑制 v 型 ATP 酶活性,从而激活溶酶体上的 AMPK^[18]。在红细胞中,二甲双胍通过引起细胞膜流动性变化同样可以调节糖代谢^[19]。

2 二甲双胍延缓 OA 发生发展的分子机制

一项研究系统回顾了二甲双胍治疗 OA 的证据,证明了二甲双胍对于 OA 具有软骨保护、免疫调节和镇痛作用^[20]。研究还证明了二甲双胍对于缓解 OA 膝关节肿胀的显著作用^[21]。在二甲双胍治疗糖尿病的机制研究中,有学者将二甲双胍的作用分为了 AMPK 依赖机制和 AMPK 非依赖机制^[22],其中 AMPK 依赖机制占主要作用。而二甲双胍治疗 OA 的研究目前也以 AMPK 依赖途径为主。二甲双胍治疗 OA 的潜在机制见图 1。

2.1 二甲双胍通过 AMPK 相关途径影响 OA 发生发展

AMPK 是一种进化上高度保守的细胞能量和代谢调节剂,维持细胞生理活动的稳定。软骨细胞中 AMPK 活性对于维持关节稳态至关重要。二甲双胍可以调节 AMPK 活性,但并不直接作用于 AMPK。



注:AMPK:腺苷酸活化蛋白激酶;mTOR:雷帕霉素靶蛋白;SIRT1:沉默调节蛋白1;ATG7:自噬相关蛋白7;β-catenin:β-连环蛋白;NF-κB:核因子κB;ERK:细胞外信号调节蛋白激酶;Bcl-2:B淋巴细胞瘤-2;Bax:Bcl-2相关X蛋白;SIRT3:沉默调节蛋白3;PINK1:磷酸酶和张力蛋白同源物诱导的假定激酶1;NLRP3:含NACHT、LRR和PYD结构域的蛋白3;COX-2:环氧化酶2;PGE2:前列腺素E2;TGF-β:转化生长因子-β;PI3K:磷脂酰肌醇3激酶;AKT:蛋白激酶B。该图片创建于BioRender.com。

图1 二甲双胍治疗 OA 的潜在机制

经典途径中,二甲双胍穿透线粒体内膜,可以抑制线粒体呼吸链复合物 I,使腺嘌呤核苷酸磷酸化电位受损,升高 AMP,从而激活 AMPK^[23]。通过醛缩酶底物 1,6-二磷酸果糖途径亦可激活溶酶体 AMPK 库^[24]。此外,二甲双胍还可以通过溶酶体途径独立激活 AMPK^[18,25]。AMPK 的激活可以抑制炎症反应、促进软骨细胞增殖和抑制软骨细胞凋亡,其相关信号通路具有软骨保护作用^[26]。AMPK 表达的主要催化异构体 AMPK α 1 基因特异性敲除后,小鼠皮质骨和骨小梁体积均有所减小,二甲双胍对小鼠 OA 软骨的保护作用则减弱或消失,证明 AMPK 相关信号通路是二甲双胍发挥作用的重要途径^[27-28]。

二甲双胍可以降低手术和药物诱导小鼠 OA 的软骨损伤严重程度,下调软骨细胞中分解代谢及衰老相关基因的表达水平,上调合成代谢相关基因表达^[29-30]。对于人关节软骨细胞,二甲双胍具有相似的效应^[31]。这种缓解软骨细胞退化和衰老的作用可能是通过增加软骨细胞中 AMPK 磷酸化水平及总蛋白水平实现的,也可能是通过 AMPK/雷帕霉素靶蛋白复合物 1(mTORC1)信号通路以剂量依赖的方式增强 AMPK 激活及 mTORC1 抑制实现的^[26-27]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mechanistic target of rapamycin, mTOR)是 AMPK 的下游靶点,软骨特异性敲除 mTOR 可增加自噬基因表达,减轻关节软骨退化和滑膜纤维化,保护关节^[32]。对于高脂饮食诱导的肥胖小鼠,二甲双胍不仅可以通过抑制 AMPK/mTORC1 信号通路减少其软骨细胞的凋亡和基质降解酶的表达,抑制滑膜巨噬细胞的浸润和 M1 促炎极化,还可以降低脂肪组织的瘦素分泌,从而保护 OA 膝关节^[33]。

在炎症环境下,二甲双胍可以增加小鼠软骨细胞中 AMPK α 磷酸化水平,上调沉默调节蛋白 1(sirtuin1, SIRT1)表达,进一步增加软骨细胞自噬并减少细胞凋亡,下调分解代谢,保护软骨。而沉默 AMPK α 2 则会降低 SIRT1 表达并下调软骨细胞自噬活动。证明二甲双胍对 SIRT1 的调节是通过 AMPK/SIRT1 信号通路介导的^[34-35]。这一调控作用在 OA 大鼠中也得以证实^[30]。SIRT1 在真核细胞中高度保守,调控包括线粒体稳态、DNA 修复和细胞衰老在内的一系列生物学过程^[36]。软骨细胞中 SIRT1 的表达水平与软骨退变程度密切相关^[37]。在人 OA 软骨细胞中, SIRT1 对软骨细胞自噬的调节涉及与自噬相关蛋白 7 的相互作用,但具体机制尚不清楚^[37]。

二甲双胍作为 AMPK 激活剂不仅可以抑制软骨细胞中 β -连环蛋白(β -catenin)丝氨酸第 552 位点的磷酸化和核易位,还可以通过 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制软骨细胞 β -catenin 信号报告活性及下游靶基因的表达,延缓 OA 进展^[38-41]。AMPK 表达的下调则会显著逆转二甲双胍对 β -catenin 及其信号通路的抑制作用^[38]。

此外,二甲双胍通过调节 AMPK/核因子 κ B(NF- κ B)信号通路,激活 AMPK,可以阻断 OA 环境下小鼠成软骨细胞 NF- κ B 通路的磷酸化及核易位,从而发挥抗炎、抗分解代谢、抗凋亡的作用,保护软骨细胞^[42]。

二甲双胍对成骨细胞和破骨细胞也具有一定作用。二甲双胍可以降低成骨细胞中核因子 κ B 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand, RANKL)水平,刺激骨保护素的表达,抑制破骨细胞分化,减少骨量流失^[43-44]。在 RANKL 诱导破骨分化的过程中,二甲双胍可以上调 AMPK 磷酸化,下调细胞外信号调节蛋白激酶(ERK)磷酸化,抑制 NF- κ B 的表达。因此,二甲双胍抑制破骨细胞形成和异常骨吸收,进一步延缓 OA 发展的机制,可能与 AMPK/NF- κ B/ERK 信号通路有关^[45]。

2.2 二甲双胍通过非 AMPK 途径参与 OA 进展

研究报道,小鼠软骨细胞中 AMPK α 1 特异性敲除对 OA 的发生发展没有影响,研究人员分析这可能是因为 AMPK α 2 通过反馈机制过表达,从而维持了 AMPK α 亚单位的结合^[46]。但这也说明 AMPK 相关通路并不是二甲双胍调控 OA 发生发展的必要途径。

内源性非编码微小核糖核酸 34a(MicroRNA-34a)可抑制 SIRT1 的表达,使肿瘤蛋白 P53 去乙酰化减弱,下调 B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)而上调 Bcl-2 相关 X 蛋白,从而调控 OA 大鼠软骨细胞凋亡,参与 OA 进展,是 OA 的潜在治疗靶点^[47]。MicroRNA-34a 也是二甲双胍的作用靶基因之一^[48]。在 OA 软骨细胞中,二甲双胍可以下调 MicroRNA-34a,通过 MicroRNA-34a/SIRT1 途径抑制软骨细胞衰老和衰老相关分泌表型,促进软骨细胞增殖和细胞外基质的合成,从而保护软骨^[49]。

在 OA 软骨细胞中,二甲双胍可以激活沉默调节蛋白 3(sirtuin3, SIRT3),通过增强 SIRT3/磷酸酶和张力蛋白同源物诱导的假定激酶 1(PTEN

induced putative kinase 1, PINK1)/Parkin 信号通路, 减轻细胞活力的丧失, 减少线粒体诱导的活性氧的产生, 使线粒体免受氧化应激的影响, 保护软骨。同时, 二甲双胍减弱分解代谢并增强合成代谢基因表达, 从而缓解 OA 进展^[50]。

二甲双胍对线粒体 ATP 和 DNA 合成进行抑制后, 可以进一步抑制含 NACHT、LRR 和 PYD 结构域的蛋白 3 (NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3, NLRP3) 炎性小体的激活, 抑制软骨分解代谢, 逆转软骨下骨重塑, 延缓 OA 关节软骨退变^[51-52]。这也可能是 AMPK 途径外的另一重要途径。

在高脂饮食诱导的 OA 中, 二甲双胍通过环氧化酶 2 (cyclooxygenase - 2, COX - 2)/前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2) 信号通路减少骨祖细胞和 H 型血管的数量, 降低膝关节软骨下骨中巨噬细胞数量和前列腺素水平的异常上升, 逆转异常的骨形成和软骨病变, 从而缓解疼痛^[53]。二甲双胍对高脂饮食诱导糖尿病大鼠所继发的 OA 软骨细胞和基质超微结构改变也有一定程度的保护作用^[54]。

将二甲双胍刺激后的人脂肪来源间充质干细胞与 OA 软骨细胞共培养, 可以抑制软骨细胞中分解代谢相关基因的表达, 并降低软骨细胞的凋亡。此外, 二甲双胍的干预可以抑制 OA 大鼠关节软骨下骨转化生长因子 β 的表达, 减轻疼痛并保护软骨^[55]。上述共培养效应的具体机制目前尚不清楚。二甲双胍对 OA 小鼠滑膜巨噬细胞浸润和 M1 促炎极化的抑制可能还与磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (AKT) 信号通路有关^[56]。而 PI3K/AKT 通路是与 AMPK 有关还是独立于 AMPK 途径, 需要更多的实验证据进一步证实。

3 二甲双胍治疗 OA 的临床意义及其联合用药

二甲双胍治疗 OA 的研究成果目前大多从小鼠和大鼠实验中得出。但有研究报道, 二甲双胍对于非人灵长类动物 OA 的发展也存在一定的缓解作用^[27]。临床试验则进一步证实二甲双胍在 OA 中的应用价值。二甲双胍的使用可以减少 OA 患者膝关节内侧软骨丢失, 显著降低全膝关节置换术风险, 改善 OA 症状, 并有益于肥胖患者长期膝关节预后^[57]。二甲双胍联合运动的治疗方案可显著改善 OA 患者的异常代谢状态和软骨退变, 改善骨量及软骨下骨微结构, 缓解 OA^[58]。

对于 OA 治疗, 二甲双胍与其他药物联合处方或许比二甲双胍单独使用能发挥出更大的作用。二甲双胍与西地那非和维生素 D₃ 联合使用, 可降低炎症受体 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 的表达, 增加细胞膜 Na⁺-K⁺-ATP 酶, 降低软骨细胞 Ca²⁺ 浓度, 改善 OA^[59]。二甲双胍联合阿仑膦酸钠可抑制成骨细胞中核因子 κ B 受体活化因子 (RANK) 表达和破骨细胞中 RANKL 表达, 抑制骨过度吸收, 抑制间充质干细胞和成纤维细胞分化, 降低 OA 患者血清瘦素浓度, 显著降低软骨退变程度, 缓解 OA^[60]。二甲双胍联合 COX-2 抑制剂可以降低糖尿病合并 OA 患者的关节置换率及关节置换手术风险。二甲双胍联合塞来昔布时, 比单用二甲双胍更有效地控制软骨损伤^[30]。

4 二甲双胍参与治疗 OA 的潜在机制

二甲双胍在 OA 发展过程中还有许多潜在作用, 其具体机制也存在研究价值。例如, 二甲双胍通过激活 AMPK 和抑制晚期糖化终产物受体 (receptor of advanced glycation endproducts, RAGE)/NF- κ B 通路可抑制晚期糖基化终产物诱导的骨髓源性巨噬细胞炎症反应^[61], 或可间接延缓 OA 进展。

二甲双胍在成骨和破骨中的作用已得到初步证实, 但研究大多针对骨质疏松症, 而在 OA 中的参与机制仍有大量的探索空间。二甲双胍能够显著降低高糖导致的原代成骨细胞氧化应激和细胞凋亡, 并直接促进细胞的成骨效应^[62]。在人成骨肉瘤细胞 Saos-2 中, 二甲双胍通过激活 AMPK, 可降低 β -catenin 蛋白水平, 抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路, 从而促进成骨细胞分化^[63]。二甲双胍通过抑制过氧化物酶体增殖物激活受体 γ , 可进一步抑制大鼠骨髓间充质干细胞向脂肪细胞分化并促进成骨细胞分化^[64]。在小鼠胚胎成骨前体细胞中, 二甲双胍可以调控 AMPK/上游刺激因子 1 (upstream stimulatory factor-1, USF-1)/小异二聚体伴侣 (small heterodimer partner, SHP) 级联通路, 通过 runt 相关转录因子 2 (runt-related transcription factor 2, Runx2) 启动子的反式激活, 促进成骨细胞分化^[65]。二甲双胍可以显著激活未分化骨髓浆细胞 (bone marrow plasma cells, BMPCs) 中的 AMPK, 使骨钙素表达和细胞外钙沉积增加, 并以时间依赖的方式增强 Runx2 表达, 促进 BMPCs 的成骨分化^[66]。AMPK 激活介导的 Runx2 上游信号分子骨形态发生蛋白 2 (bone

morphogenetic protein 2, BMP-2)的表达也参与了成骨细胞分化^[67]。BMP2/Runx2信号通路的激活可以促进成骨相关蛋白的表达^[68]。

二甲双胍在非AMPK途径的作用位点是其调控OA的另一个潜在研究方向。跨膜受体TLR4就是可能的潜在靶点之一。在人关节软骨细胞中,二甲双胍通过TLR4-ERK1/2-c-Jun信号通路可以显著减弱分解代谢和炎症相关因子的表达^[69]。再者,二甲双胍通过抑制TLR4/髓样分化因子88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)/NF- κ B信号通路可以阻止高血糖诱导的成骨细胞凋亡和分化抑制^[70]。此外,二甲双胍通过激活核因子-红细胞2相关因子2(nuclear factor- erythroid 2 related factor 2, Nrf2)/血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)信号通路,可以减少脂多糖诱导的软骨细胞凋亡,增加细胞活力,降低氧化应激损伤和炎症反应,保护软骨^[71]。以上具体机制目前尚不清楚。

5 研究瓶颈与展望

OA复杂的致病机制至今仍未阐明,而二甲双胍作为有效药物,在临床试验中已得到初步验证。除潜在分子机制的探索,二甲双胍的临床使用仍有一系列问题亟待解决。

首先是二甲双胍的使用剂量问题。二甲双胍的治疗效应与剂量有关。较高浓度二甲双胍可抑制线粒体呼吸链复合物I,导致AMP/ATP比例增加;而低浓度二甲双胍则不足以增加其比例,但可抑制二丁酰-cAMP刺激的糖异生基因表达^[26,72]。因此在长期使用二甲双胍时,其浓度和剂量的把控尤为重要。此外,肥胖和OA通常同时存在,目前对二甲双胍在OA的研究,大部分没有进行体质量指数(BMI)分层研究,少数则是单独研究对肥胖合并OA患者的疗效。但对于不同BMI范围内的OA患者,同剂量的二甲双胍的疗效是否存在差异这一问题并不明晰。类比,二甲双胍是公认的2型糖尿病一线药物,但是对于没有糖尿病的OA患者,二甲双胍的给药剂量和给药频率是否应该相应调整,转而选择较低较安全的范围,这需要更多临床研究数据加以证明。

其次是二甲双胍的生物利用度和精准定位问题。目前二甲双胍多是以口服方式给药,受吸收率的影响,其实际作用剂量会相应减少。再加上药物随血液循环至全身,二甲双胍作用于关节的实际效

应大大降低。在试验过程中,虽然也应用了关节腔内注射的给药方式,但是仍然存在特异性靶向较差的问题。最新的研究中,有研究人员利用铁蛋白纳米笼的自组装特性,将一种软骨靶向肽植入其表面,并装载二甲双胍,从而使得二甲双胍能靶向进入软骨细胞,同时保留时间也相应得以延长,增强了二甲双胍针对OA的疗效^[73]。此外,结合有二甲双胍的新型水凝胶也已有报道,体外及体内实验中软骨缺损的治疗效果较为显著,但其临床应用有待进一步评估^[74]。

再者是二甲双胍的副作用问题。二甲双胍的常见不良反应包括胃肠道反应、神经系统异常、维生素B₁₂吸收异常等^[75-77],较严重的包括乳酸性酸中毒^[78]。针对OA合并其他疾病(如肾脏疾病、血液疾病等)的患者,二甲双胍是否需要禁用?改变二甲双胍的给药方式和药物剂型是否能够解决部分副作用带来的影响?这也是后续研究人员需要考虑的问题。

最后是二甲双胍的联合用药问题。上述已知的联合用药方式部分缺乏临床验证。另外,是否还有其他药物能将二甲双胍的OA治疗效应发挥至最大化,同时将可能的药物毒性降至最低?这也是二甲双胍未来临床使用将面临的难题。

6 结论

OA作为影响全球人群健康的公共卫生问题,目前仍然缺乏高效的治疗措施。二甲双胍作为传统的糖尿病治疗药物,因为在临床显示出的关节保护效果,目前已成为OA研究的热门之一。二甲双胍治疗OA的探索,无论从实验还是从临床入手,或是以分子机制切入,或是以药物应用切入,都展现出巨大的空间和潜力。相信随着未来研究的深入,二甲双胍将成为OA治疗的有力工具并为OA患者带来福音。

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] Bannuru RR, Osani MC, Vaysbrot EE, et al. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee, hip, and polyarticular osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2019, 27(11): 1578-1589.

- [3] Kolasinski SL, Neogi T, Hochberg MC, et al. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation guideline for the management of osteoarthritis of the hand, hip, and knee [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2020, 72 (2): 220-233.
- [4] Richard MJ, Driban JB, McAlindon TE. Pharmaceutical treatment of osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2023, 31(4): 458-466.
- [5] Pernicova I, Korbonits M. Metformin--mode of action and clinical implications for diabetes and cancer [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2014, 10(3): 143-156.
- [6] 付炎, 王于方, 吴一兵, 等. 天然药物化学史话: 二甲双胍 60 年——山羊豆开启的经典降糖药物 [J]. *中草药*, 2017, 48(22): 4591-4600.
- [7] Alušik Š, Paluch Z. Metformin: the past, presence, and future [J]. *Minerva Med*, 2015, 106(4): 233-238.
- [8] Thomas I, Gregg B. Metformin; a review of its history and future: from lilac to longevity [J]. *Pediatr Diabetes*, 2017, 18(1): 10-16.
- [9] Keller U, Berger W. Oral antidiabetic agents: recent aspects [J]. *Schweiz Med Wochenschr*, 1983, 113(17): 645-650.
- [10] Albertelli M, Nazzari E, Dotto A, et al. Possible protective role of metformin therapy on colonic polyps in acromegaly: an exploratory cross-sectional study [J]. *Eur J Endocrinol*, 2021, 184(3): 419-425.
- [11] Han Y, Xie H, Liu Y, et al. Effect of metformin on all-cause and cardiovascular mortality in patients with coronary artery diseases: a systematic review and an updated meta-analysis [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2019, 18(1): 96.
- [12] Berenbaum F. Diabetes - induced osteoarthritis: from a new paradigm to a new phenotype [J]. *Ann Rheum Dis*, 2011, 70(8): 1354-1356.
- [13] El-Mir MY, Nogueira V, Fontaine E, et al. Dimethylbiguanide inhibits cell respiration via an indirect effect targeted on the respiratory chain complex I [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(1): 223-228.
- [14] Owen MR, Doran E, Halestrap AP. Evidence that metformin exerts its anti - diabetic effects through inhibition of complex 1 of the mitochondrial respiratory chain [J]. *Biochem J*, 2000, 348 Pt 3(Pt 3): 607-614.
- [15] Stephenne X, Foretz M, Taleux N, et al. Metformin activates AMP-activated protein kinase in primary human hepatocytes by decreasing cellular energy status [J]. *Diabetologia*, 2011, 54(12): 3101-3110.
- [16] Logie L, Harthill J, Patel K, et al. Cellular responses to the metal-binding properties of metformin [J]. *Diabetes*, 2012, 61(6): 1423-1433.
- [17] Solier S, Müller S, Cañeque T, et al. A druggable copper-signalling pathway that drives inflammation [J]. *Nature*, 2023, 617(7960): 386-394.
- [18] Ma T, Tian X, Zhang B, et al. Low-dose metformin targets the lysosomal AMPK pathway through PEN2 [J]. *Nature*, 2022, 603(7899): 159-165.
- [19] Muller S, Denet S, Candiloros H, et al. Action of metformin on erythrocyte membrane fluidity in vitro and in vivo [J]. *Eur J Pharmacol*, 1997, 337(1): 103-110.
- [20] Lim YZ, Wang Y, Estee M, et al. Metformin as a potential disease - modifying drug in osteoarthritis: a systematic review of pre - clinical and human studies [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2022, 30(11): 1434-1442.
- [21] Alimoradi N, Tahami M, Firouzabadi N, et al. Metformin attenuates symptoms of osteoarthritis: role of genetic diversity of Bcl2 and CXCL16 in OA [J]. *Arthritis Res Ther*, 2023, 25(1): 35.
- [22] Rena G, Hardie DG, Pearson ER. The mechanisms of action of metformin [J]. *Diabetologia*, 2017, 60(9): 1577-1585.
- [23] Hardie DG, Schaffer BE, Brunet A. AMPK: An energy-sensing pathway with multiple inputs and outputs [J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(3): 190-201.
- [24] Lin SC, Hardie DG. AMPK: Sensing glucose as well as cellular energy status [J]. *Cell Metab*, 2018, 27(2): 299-313.
- [25] Zhang CS, Li M, Ma T, et al. Metformin activates AMPK through the lysosomal pathway [J]. *Cell Metab*, 2016, 24(4): 521-522.
- [26] Feng X, Pan J, Li J, et al. Metformin attenuates cartilage degeneration in an experimental osteoarthritis model by regulating AMPK/mTOR [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(2): 1087-1103.
- [27] Li J, Zhang B, Liu WX, et al. Metformin limits osteoarthritis development and progression through activation of AMPK signalling [J]. *Ann Rheum Dis*, 2020, 79(5): 635-645.
- [28] Shah M, Kola B, Bataveljic A, et al. AMP-activated protein kinase (AMPK) activation regulates in vitro bone formation and bone mass [J]. *Bone*, 2010, 47(2): 309-319.
- [29] Li H, Ding X, Terkeltaub R, et al. Exploration of metformin as novel therapy for osteoarthritis: preventing cartilage degeneration and reducing pain behavior [J]. *Arthritis Res Ther*, 2020, 22(1): 34.
- [30] Na HS, Kwon JY, Lee SY, et al. Metformin attenuates monosodium - iodoacetate - induced osteoarthritis via

- regulation of pain mediators and the autophagy-lysosomal pathway[J]. *Cells*, 2021, 10(3): 681.
- [31] Schädler P, Lohberger B, Stündl N, et al. The effect of body mass index and metformin on matrix gene expression in arthritic primary human chondrocytes [J]. *Cartilage*, 2021, 13(2_suppl): 1004S-1018S.
- [32] Zhang Y, Vasheghani F, Li YH, et al. Cartilage-specific deletion of mTOR upregulates autophagy and protects mice from osteoarthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74(7): 1432-1440.
- [33] Li D, Ruan G, Zhang Y, et al. Metformin attenuates osteoarthritis by targeting chondrocytes, synovial macrophages and adipocytes[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2023, 62(4): 1652-1661.
- [34] Wang C, Yao Z, Zhang Y, et al. Metformin mitigates cartilage degradation by activating AMPK/SIRT1 - mediated autophagy in a mouse osteoarthritis model [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 1114.
- [35] Matsuzaki T, Matsushita T, Takayama K, et al. Disruption of Sirt1 in chondrocytes causes accelerated progression of osteoarthritis under mechanical stress and during ageing in mice[J]. *Ann Rheum Dis*, 2014, 73(7): 1397-1404.
- [36] Haigis MC, Sinclair DA. Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance [J]. *Annu Rev Pathol*, 2010, 5: 253-295.
- [37] Liao FX, Huang F, Ma WG, et al. The new role of Sirtuin1 in human osteoarthritis chondrocytes by regulating autophagy [J]. *Cartilage*, 2021, 13(2_suppl): 1237S-1248S.
- [38] Zhu Z, Huang Y, Li J, et al. AMPK activator decelerates osteoarthritis development by inhibition of β - catenin signaling in chondrocytes [J]. *J Orthop Translat*, 2022, 38: 158-166.
- [39] Wang M, Tang D, Shu B, et al. Conditional activation of β -catenin signaling in mice leads to severe defects in intervertebral disc tissue [J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(8): 2611-2623.
- [40] Wang M, Sampson ER, Jin H, et al. MMP13 is a critical target gene during the progression of osteoarthritis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2013, 15(1): R5.
- [41] Liao L, Zhang S, Gu J, et al. Deletion of Runx2 in articular chondrocytes decelerates the progression of DMM-induced osteoarthritis in adult mice [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2371.
- [42] Zhang M, Liu Y, Huan Z, et al. Metformin protects chondrocytes against IL-1 β induced injury by regulation of the AMPK/NF- κ B signaling pathway [J]. *Pharmazie*, 2020, 75(12): 632-636.
- [43] Mai QG, Zhang ZM, Xu S, et al. Metformin stimulates osteoprotegerin and reduces RANKL expression in osteoblasts and ovariectomized rats [J]. *J Cell Biochem*, 2011, 112(10): 2902-2909.
- [44] Gao Y, Li Y, Xue J, et al. Effect of the anti-diabetic drug metformin on bone mass in ovariectomized rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 635(1-3): 231-236.
- [45] 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): e0261127.
- [46] Yang C, Li Z, Lai P, et al. Chondrocyte-specific ablation of AMPK α 1 does not affect bone development or pathogenesis of osteoarthritis in mice [J]. *DNA Cell Biol*, 2016, 35(3): 156-162.
- [47] Yan S, Wang M, Zhao J, et al. MicroRNA - 34a affects chondrocyte apoptosis and proliferation by targeting the SIRT1/p53 signaling pathway during the pathogenesis of osteoarthritis [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(1): 201-209.
- [48] Feng L, Liu T, Yang Y, et al. Metformin promotes proliferation and suppresses apoptosis in Ox - LDL stimulated macrophages by regulating the miR - 34a/Bcl2 axis [J]. *RSC Adv*, 2019, 9(26): 14670-14676.
- [49] 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.
- [50] Wang C, Yang Y, Zhang Y, et al. Protective effects of metformin against osteoarthritis through upregulation of SIRT3-mediated PINK1/Parkin-dependent mitophagy in primary chondrocytes [J]. *Biosci Trends*, 2019, 12(6): 605-612.
- [51] Yan J, Ding D, Feng G, et al. Metformin reduces chondrocyte pyroptosis in an osteoarthritis mouse model by inhibiting NLRP3 inflammasome activation [J]. *Exp Ther Med*, 2022, 23(3): 222.
- [52] Xian H, Liu Y, Rundberg Nilsson A, et al. Metformin inhibition of mitochondrial ATP and DNA synthesis abrogates NLRP3 inflammasome activation and pulmonary inflammation [J]. *Immunity*, 2021, 54(7): 1463-1477.e11.
- [53] Liu X, Guo Q, Wang L, et al. Metformin attenuates high-fat diet induced metabolic syndrome related osteoarthritis through inhibition of prostaglandins [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1184524.
- [54] Dawood AF, Alzamil N, Ebrahim HA, et al. Metformin

- pretreatment suppresses alterations to the articular cartilage ultrastructure and knee joint tissue damage secondary to type 2 diabetes mellitus in rats [J]. *Ultrastruct Pathol*, 2020, 44(3): 273-282.
- [55] Park MJ, Moon SJ, Baek JA, et al. Metformin augments anti-inflammatory and chondroprotective properties of mesenchymal stem cells in experimental osteoarthritis [J]. *J Immunol*, 2019, 203(1): 127-136.
- [56] Zheng M, Zhu Y, Wei K, et al. Metformin attenuates the inflammatory response via the regulation of synovial M1 macrophage in osteoarthritis [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(6): 5355.
- [57] Wang Y, Hussain SM, Wluka AE, et al. Association between metformin use and disease progression in obese people with knee osteoarthritis: data from the Osteoarthritis Initiative-a prospective cohort study [J]. *Arthritis Res Ther*, 2019, 21(1): 127.
- [58] Li H, Gou Y, Tian F, et al. Combination of metformin and exercise alleviates osteoarthritis in ovariectomized mice fed a high-fat diet [J]. *Bone*, 2022, 157: 116323.
- [59] Hansson E, Skögldebrand E. Bupivacaine in combination with sildenafil (Viagra) and vitamin D3 have anti-inflammatory effects in osteoarthritic chondrocytes [J]. *Curr Res Pharmacol Drug Discov*, 2021, 2: 100066.
- [60] Belenska-Todorova L, Lambova SN, Stoyanova S, et al. Disease-modifying potential of metformin and alendronate in an experimental mouse model of osteoarthritis [J]. *Biomedicines*, 2021, 9(8): 1017.
- [61] Zhou Z, Tang Y, Jin X, et al. Metformin inhibits advanced glycation end products-induced inflammatory response in murine macrophages partly through AMPK activation and RAGE/NFκB pathway suppression [J]. *J Diabetes Res*, 2016, 2016: 4847812.
- [62] Zhen D, Chen Y, Tang X. Metformin reverses the deleterious effects of high glucose on osteoblast function [J]. *J Diabetes Complications*, 2010, 24(5): 334-344.
- [63] Takatani T, Minagawa M, Takatani R, et al. AMP-activated protein kinase attenuates Wnt/β-catenin signaling in human osteoblastic Saos-2 cells [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2011, 339(1-2): 114-119.
- [64] Gao Y, Xue J, Li X, et al. Metformin regulates osteoblast and adipocyte differentiation of rat mesenchymal stem cells [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2008, 60(12): 1695-1700.
- [65] Jang WG, Kim EJ, Bae IH, et al. Metformin induces osteoblast differentiation via orphan nuclear receptor SHP-mediated transactivation of Runx2 [J]. *Bone*, 2011, 48(4): 885-893.
- [66] Molinuevo MS, Schurman L, McCarthy AD, et al. Effect of metformin on bone marrow progenitor cell differentiation: in vivo and in vitro studies [J]. *J Bone Miner Res*, 2010, 25(2): 211-221.
- [67] Kanazawa I, Yamaguchi T, Yano S, et al. Metformin enhances the differentiation and mineralization of osteoblastic MC3T3-E1 cells via AMP kinase activation as well as eNOS and BMP-2 expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 375(3): 414-419.
- [68] Jang WG, Kim EJ, Kim DK, et al. BMP2 protein regulates osteocalcin expression via Runx2-mediated Atf6 gene transcription [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(2): 905-915.
- [69] Chen YT, Wang CC, Cheng CP, et al. Interleukin-26 has synergistic catabolic effects with palmitate in human articular chondrocytes via the TLR4-ERK1/2-c-Jun signaling pathway [J]. *Cells*, 2021, 10(9): 2500.
- [70] Zheng L, Shen X, Ye J, et al. Metformin alleviates hyperglycemia-induced apoptosis and differentiation suppression in osteoblasts through inhibiting the TLR4 signaling pathway [J]. *Life Sci*, 2019, 216: 29-38.
- [71] 王旭东, 韩俊柱, 王文锐, 等. 二甲双胍激活核因子E2及相关通路保护脂多糖诱导的软骨细胞损伤 [J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(26): 4147-4153.
- [72] He L, Wondisford FE. Metformin action: concentrations matter [J]. *Cell Metab*, 2015, 21(2): 159-162.
- [73] He Y, Ren E, Lu Z, et al. Rational engineering of ferritin nanocages for targeted therapy of osteoarthritis [J]. *Nanomedicine*, 2020, 28: 102210.
- [74] Xu L, Ma F, Huang J, et al. Metformin hydrochloride encapsulation by alginate strontium hydrogel for cartilage regeneration by relieving cellular senescence [J]. *Biomacromolecules*, 2021, 22(2): 671-680.
- [75] Cicero AF, Tartagni E, Ertek S. Metformin and its clinical use: new insights for an old drug in clinical practice [J]. *Arch Med Sci*, 2012, 8(5): 907-917.
- [76] Bouchoucha M, Uzzan B, Cohen R. Metformin and digestive disorders [J]. *Diabetes Metab*, 2011, 37(2): 90-96.
- [77] Kim J, Ahn CW, Fang S, et al. Association between metformin dose and vitamin B12 deficiency in patients with type 2 diabetes [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(46): e17918.
- [78] Eppenga WL, Lalmohamed A, Geerts AF, et al. Risk of lactic acidosis or elevated lactate concentrations in metformin users with renal impairment: a population-based cohort study [J]. *Diabetes Care*, 2014, 37(8): 2218-2224.

(收稿日期: 2024-04-26)

(本文编辑: 孙勇)