

· 基础研究 ·

补骨脂对骨关节炎软骨细胞模型基质金属蛋白酶及核因子- κ B 表达的影响罗 静^{1,2} 陈光耀³ 陈嘉琪³ 余新波³ 陶庆文^{1,2}

摘要 **目的** 探索补骨脂对骨关节炎(OA)软骨细胞模型基质金属蛋白酶(MMPs)与核因子- κ B(NF- κ B)表达的影响。**方法** 通过细胞增殖实验确定补骨脂干预细胞的高、中、低剂量分别为3 600、1 800、900 mg/L。将细胞分为正常组、模型组(10 ng/mL IL-1 β)、补骨脂低剂量组(10 ng/mL IL-1 β + 900 mg/L 补骨脂)、补骨脂中剂量组(10 ng/mL IL-1 β + 1 800 mg/L 补骨脂)、补骨脂高剂量组(10 ng/mL IL-1 β + 3 600 mg/L 补骨脂)。采用10 ng/mL IL-1 β 诱导人软骨肉瘤细胞(SW1353)炎症反应,构建OA软骨细胞模型。采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)检测MMP-1、MMP-3、MMP-13 mRNA表达,蛋白免疫印迹法(Western Blot)检测MMP-1、MMP-3、MMP-13、NF- κ B p65、NF- κ B 抑制蛋白 α (I κ B- α)蛋白表达,及免疫荧光观察NF- κ B p65蛋白表达。**结果** 与正常组比较,模型组细胞内MMP-1、MMP-3、MMP-13 mRNA及蛋白表达增加,胞核内NF- κ B p65蛋白表达增加,胞浆中I κ B- α 蛋白表达减少($P < 0.01$)。与模型组比较,补骨脂高剂量组细胞内MMP-3、MMP-13 mRNA及蛋白表达明显减少,胞核内NF- κ B p65蛋白表达明显减少,胞浆中I κ B- α 蛋白表达显著增加($P < 0.01$)。免疫荧光显示,高剂量补骨脂能部分抑制胞浆中NF- κ B p65蛋白转移至胞核内。**结论** 补骨脂可通过抑制NF- κ B通路,下调MMP-3、MMP-13表达,起到保护软骨的作用。

关键词 补骨脂; SW1353细胞; 骨关节炎; 核因子- κ B; 基质金属蛋白酶

Effect of *Psoralea Corylifolia* on Expressions of Matrix Metalloproteinases and Nuclear Factor- κ B in Model of Osteoarthritis Chondrocytes LUO Jing^{1,2}, CHEN Guang-yao³, CHEN Jia-qi³, YU Xin-bo³, and TAO Qing-wen^{1,2} 1 Department of Traditional Chinese Medicine Rheumatism, China-Japan Friendship Hospital, Beijing (100029); 2 Beijing Key Laboratory of Immune inflammatory Disease, Beijing (100029); 3 Graduate School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100029)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect of *Psoralea corylifolia* on the expressions of matrix metalloproteinases (MMPs) and nuclear factor- κ B (NF- κ B) in model of osteoarthritis chondrocytes. **Methods** The high, medium and low doses of *Psoralea corylifolia* were determined by cell proliferation assay at 3 600, 1 800, and 900 mg/L, respectively. The cells were divided into normal group, model group (10 ng/mL IL-1 β), *Psoralea corylifolia* low dose group (10 ng/mL IL-1 β + 900 mg/L *Psoralea corylifolia*), *Psoralea corylifolia* medium dose group (10 ng/mL IL-1 β + 1 800 mg/L *Psoralea corylifolia*), and *Psoralea corylifolia* high dose group (10 ng/mL IL-1 β + 3 600 mg/L *Psoralea corylifolia*). The inflammatory response of human chondrosarcoma cells (SW1353) was induced by 10 ng/mL IL-1 β to establish an osteoarthritis (OA) chondrocyte model. mRNA expressions of MMP-1, MMP-3, MMP-13 were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR). The protein expressions of MMP-1, MMP-3, MMP-13, NF- κ B p65, and inhibition protein α of NF- κ B (I κ B- α) were detected by Western Blot. And the protein expression of NF- κ B p65 was observed by immunofluorescence. **Results** Compared with the normal group, mRNA and protein expressions of MMP-1, MMP-3, and MMP-

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (No.81804042)

作者单位: 1. 中日友好医院中医风湿病科 (北京 100029); 2. 免疫炎症性疾病北京市重点实验室 (北京 100029); 3. 北京中医药大学研究生院 (北京 100029)

通讯作者: 陶庆文, Tel: 010-84205067, E-mail: taoqg1@sina.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20210609.306

13 increased significantly, NF- κ B p65 protein expression in nucleus increased significantly, and I κ B- α protein expression in cytoplasm decreased significantly in the model group ($P<0.01$). Compared with the model group, mRNA and protein expressions of MMP-3 and MMP-13 decreased significantly, and NF- κ B p65 protein expression in nucleus decreased significantly, and I κ B- α protein expression in cytoplasm increased significantly in high dose *Psoralea corylifolia* group ($P<0.01$). Immunofluorescence showed that high dose *Psoralea corylifolia* could partially inhibit the transfer of NF- κ B p65 protein from cytoplasm to nucleus. **Conclusion** *Psoralea corylifolia* played protective roles in treating OA cartilage by inhibiting NF- κ B pathway and down-regulating the expressions of MMP-3 and MMP-13.

KEYWORDS *Psoralea corylifolia*; SW1353 cell; osteoarthritis; NF- κ B; matrix metalloproteinase

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 以关节软骨变性、破坏为主要病理特点, 是最常见的慢性关节病。OA 可致畸和致残, 我国 40 岁以上人群 OA 患病率为 46.3%, 70 岁以上人群高达 60.0%^[1]。正常关节软骨主要由软骨细胞和细胞外基质组成, 软骨细胞合成分泌细胞外基质, 细胞外基质为软骨细胞存活提供必需的微环境, 二者共同维持关节软骨的稳态^[2]。有研究发现, 基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 如 MMP-1、MMP-3、MMP-13 是促进软骨基质降解的关键物质^[3], 而核因子- κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 通路在 OA 发病中起着重要作用^[4]。OA 属中医学“骨痹”的范畴, 肾虚是其主病机, 现代医家常以补肾温阳为主治疗本病^[5,6], 补骨脂是常用治疗药物之一^[7-10], 但其干预 OA 的作用机制尚未阐明。本研究通过 IL-1 β 诱导人软骨肉瘤细胞 (SW1353) 炎症反应, 建立体外培养的 OA 软骨细胞模型, 观察补骨脂对该模型细胞 MMP-1、MMP-3、MMP-13 及 NF- κ B 表达的影响, 旨在探索补骨脂保护软骨的可能作用机制, 可为其治疗 OA 提供实验依据。

材料与方法

1 材料

1.1 细胞 SW1353 细胞株 (货号: ZKCC-X1633, 北京中科质检生物技术有限公司)。

1.2 药物 补骨脂水提物 (货号: S29768, 上海源叶生物科技有限公司)。

1.3 主要试剂 Leibovitz' s L-15 培养基 (货号: 11415-064, 美国 GIBCO 公司), 胎牛血清 (货号: 0500, 美国 ScienCell 公司), IL-1 β (货号: 200-01B, 美国 Peprotech 公司), 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer solution, PBS, 货号: SH30256.01, 美国 Hyclone 公司)。总 RNA 提取试剂盒 (货号: R4111-02, 广州美基生物科技有限公司), 逆转录试剂盒 (货号: A3500)、MTS (货号:

G3580) 均为美国 Promega 公司产品, SYBR Green Real-time PCR Master Mix (货号: QPK-201, 日本 TOYOBO 公司), MMP-1、MMP-3、MMP-13、 β -actin 引物 (北京擎科生物科技有限公司, 序列见表 1)。核蛋白提取试剂盒 (货号: R0050, 北京索莱宝科技有限公司), 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE) 凝胶快速制备试剂盒 (货号: PG112, 上海雅酶生物科技有限公司), MMP-1 抗体 (货号: 10371-2-AP, 美国 Proteintech 公司), MMP-3 抗体 (货号: ab53015)、MMP-13 抗体 (货号: ab39012) 均为英国 Abcam 公司产品, NF- κ B p65 抗体 (货号: 8242T)、NF- κ B 抑制蛋白 α (inhibitor α of NF- κ B, I κ B- α) I κ B- α 抗体 (货号: 4814T) 均为美国 Cell Signaling 公司产品, β -actin 抗体 (货号: TA-09, 北京中杉金桥生物技术有限公司), Lamin B1 抗体 (货号: YT5108, 美国 Immunoway 公司), 山羊抗小鼠二抗 (货号: ZB-5305)、山羊抗兔二抗 (货号: ZB-2301)、山羊抗兔 IgG (H+L) 二抗 (货号: ZF-0511) 均为北京中杉金桥生物技术有限公司产品。Animal-Free Blocking Solution (货号: 15019S, 美国 Cell Signaling 公司), 含 4', 6-二脒基-2-苯基吲哚染色 (4', 6-diamidino-2-phenylindole staining solution, DAPI) 荧光封片剂 (货号: ZLI-9557, 北京中杉金桥生物技术有限公司)。

表 1 RT-PCR 引物序列

基因名称	引物序列 (5'-3')	引物长度 (bp)
MMP-1	正向 CTGTTTCTGGCCACAACCTG	20
	反向 GGAAGCCAAAGGAGCTGTAG	20
MMP-3	正向 TTGGCCATCTCTTCCTTCAG	20
	反向 GAAACCTAGGGTGTGGATGC	20
MMP-13	正向 GTGCCCTTCTTCACACAGAC	20
	反向 AGAGCAGACTTTGAGTCATTGC	22
β -actin	正向 TGGTGAAGACGCCAGTGGA	19
	反向 GCACCGTCAAGGCTGAGAAC	20

1.4 主要仪器 0.22 μm 除菌过滤器 (型号: PR00538, 美国 Millipore 公司), 细胞培养箱 (型号: Thermo 371)、Nanodrop one 超微量分光光度计 (型号: CLAA070WPOF-TP)、实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-PCR) 系统 (型号: ABI 7500) 均为美国 Thermofisher 公司产品, 垂直电泳仪 (型号: 525BR)、凝胶成像仪 (型号: 721BR16681) 均为美国 Bio-Rad 公司产品, 荧光显微镜 (型号: LSM800), 为德国 Carl Zeiss 公司产品。

2 方法

2.1 药物配制 补骨脂水提物用 PBS 溶解后, 经孔径 0.22 μm 除菌过滤器过滤, 分装 -20°C 保存备用。将 IL-1 β 粉末以 10 000 r/min 离心 1min 后, 用灭菌去离子水配置成 100 $\mu\text{g/mL}$ 的溶液, 再用含 5% 海藻糖的 PBS 缓冲液稀释至 10 $\mu\text{g/mL}$, 分装 -20°C 保存备用。

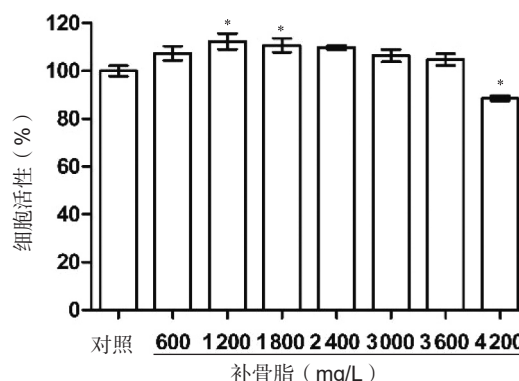
2.2 OA 软骨细胞模型的建立 依据文献 [11, 12] 的实验方法, 使用 10 ng/mL IL-1 β 刺激 SW1353 建立 OA 软骨细胞模型。即: 将 SW1353 细胞培养于含 90% Leibovitz' s L-15 培养基、10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 mg/mL 链霉素的完全培养基中, 培养箱条件设定为 37°C 、饱和湿度, 密闭培养瓶避免与外界进行气体交换。种板后加入 IL-1 β 使终浓度为 10 ng/mL。

2.3 补骨脂干预 SW1353 细胞剂量的确定 将 SW1353 细胞接种于 96 孔板中 (每孔 2 万个细胞), 分别予以不同浓度 (0、600、1 200、1 800、2 400、3 000、3 600、4 200 mg/L) 补骨脂溶液干预细胞 12h。MTS 法检测细胞存活率 (图 1)。参照前期研究方法 [13], 选取细胞毒性较小的最大浓度为干预剂量, 最终确立补骨脂干预 SW1353 细胞的高、中、低剂量为 3 600、1 800、900 mg/L。

2.4 分组及给药方法 将细胞依据干预条件分为正常组, 模型组, 补骨脂低、中、高剂量组。正常组不予药物干预, 其余各组干预条件如下: 模型组予 10 ng/mL IL-1 β ; 补骨脂低剂量组予 10 ng/mL IL-1 β + 900 mg/L 补骨脂; 补骨脂中剂量组予 10 ng/mL IL-1 β + 1 800 mg/L 补骨脂; 补骨脂高剂量组予 10 ng/mL IL-1 β + 3 600 mg/L 补骨脂。

2.5 观察指标及检测方法

2.5.1 RT-PCR 检测 MMP-1、MMP-3、MMP-13 mRNA 表达 细胞干预实验完成后, PBS 冲洗 2 次, 使用总 RNA 提取试剂盒依据说明书提取总 RNA, 使



注: 与对照组比较, * $P < 0.05$

图 1 不同浓度补骨脂干预 SW1353 细胞活性比较

用 Nanodrop 超微量分光光度计检测 RNA 浓度, 取 1 μg 总 RNA 逆转录形成 cDNA。用 SYBR Green Realtime PCR Master Mix 配置 20 μL 反应体系, 使用 ABI 7500 RT-PCR 系统进行 PCR 扩增。以 β -actin 为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta\text{ct}}$ 方法计算 MMP-1、MMP-3、MMP-13 mRNA 的相对表达量。

2.5.2 蛋白免疫印迹法 (Western Blot) 检测 MMP-1、MMP-3、MMP-13、NF- κ B p65、I κ B- α 蛋白表达 细胞干预实验完成后, PBS 冲洗 2 次, 检测 MMP-1、MMP-3、MMP-13 指标时加入 Ripa 裂解液裂解细胞。检测 NF- κ B p65、I κ B- α 指标时使用核蛋白提取试剂盒依据说明书进行细胞浆与细胞核蛋白提取。测定蛋白浓度后加入上样缓冲液并煮沸。使用凝胶快速制备试剂盒制备 10% 的 PAGE 凝胶, 使用 200 V 电压进行电泳。结束后使用 70 V 电压 60 min 将凝胶中的蛋白转膜至经甲醇活化的 PVDF 膜上, 将 PVDF 膜使用 5% 脱脂奶粉进行封闭 1 h, 加入相应稀释后的一抗 4°C 过夜, 用 TBST 清洗 5 次后加入稀释后的二抗室温下孵育 1 h, 使用 TBST 清洗 5 次后滴加 ECL 发光液进行曝光。用 Image Lab 软件分析相应条带的灰度值。

2.5.3 免疫荧光观察 NF- κ B p65 蛋白的表达 细胞干预实验完成后, 弃去培养基, 使用室温的 PBS 冲洗 3 次去除培养基, 加入 4% 多聚甲醛室温固定 15 min。使用 PBS 洗涤细胞 3 次, PBS 配置 0.1% Triton 溶液, 加入室温孵育 15 min, PBS 再洗涤细胞 3 次。用 Animal-Free Blocking Solution 进行封闭, 滴加 NF- κ B p65 抗体 (1:400), 4°C 过夜后 PBS 洗涤细胞 3 次。滴加 Alexa Fluor 488 标记亲和纯化山羊抗兔 IgG (H+L) 二抗 (1:200), 37°C 孵育 30 min, 用 PBS 洗涤细胞 3 次。荧光封片剂封片后用荧光显微镜观察 NF- κ B p65 蛋白的表达。

2.6 统计学方法 采用 GraphPad Prism 4 进行统计分析和作图。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 *Dunnett T* 检验, 假设检验均采用双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组 SW1353 细胞 MMP-1、MMP-3、MMP-13 mRNA 表达水平比较 (表 2) 干预 12 h 后, 与正常组比较, 模型组 MMP-1、MMP-3、MMP-13 mRNA 的表达显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 补骨脂低、中、高剂量组 MMP-1 mRNA 表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 补骨脂中、高剂量组 MMP-3、MMP-13 mRNA 表达均减少 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

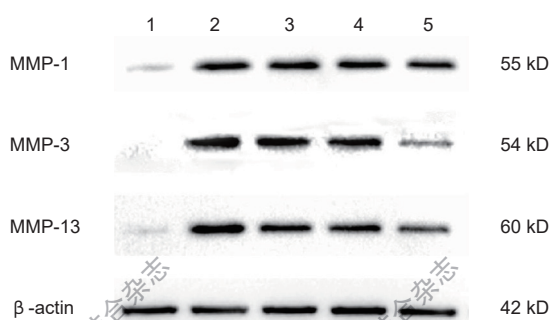
表 2 各组 SW1353 细胞内 MMP-1、MMP-3、MMP-13 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MMP-1	MMP-3	MMP-13
正常	3	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000
模型	3	51.735 ± 4.340*	46.572 ± 7.299*	49.723 ± 5.196*
补骨脂低剂量	3	48.387 ± 3.962	37.302 ± 5.110	39.869 ± 5.526
中剂量	3	44.654 ± 4.856	31.368 ± 4.745 [△]	34.880 ± 4.846 [△]
高剂量	3	41.858 ± 5.420	25.782 ± 3.832 ^{△△}	29.451 ± 5.048 ^{△△}

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$

2 各组 SW1353 细胞内 MMP-1、MMP-3、MMP-13 蛋白表达水平比较 (图 2, 表 3) 干预 12 h 后, 与正常组比较, 模型组细胞内 MMP-1、MMP-3、MMP-13 蛋白表达显著增加 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 补骨脂低、中、高剂量组细胞内 MMP-1 蛋白表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 补骨脂中剂量组细胞内 MMP-13 蛋白表达显著减少 ($P < 0.01$), 补骨脂高剂量组细胞内 MMP-3、MMP-13 蛋白表达亦显著减少 ($P < 0.01$)。

3 各组 SW1353 细胞 NF- κ B p65、I κ B- α 蛋



注: 1 为正常组; 2 为模型组; 3 为补骨脂低剂量组; 4 为补骨脂中剂量组; 5 为补骨脂高剂量组

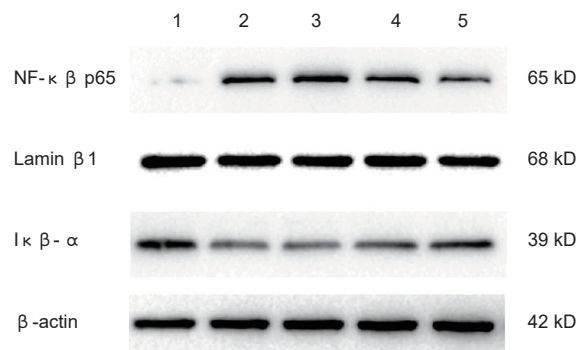
图 2 各组 SW1353 细胞 MMP-1、MMP-3、MMP-13 电泳图

表 3 各组 SW 1353 细胞 MMP-1、MMP-3、MMP-13 蛋白表达水平比较 (灰度值, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	MMP-1/ β -actin	MMP-3/ β -actin	MMP-13/ β -actin
正常	3	0.080 ± 0.034	0.000 ± 0.000	0.056 ± 0.004
模型	3	1.000 ± 0.000*	1.000 ± 0.000*	1.000 ± 0.000*
补骨脂低剂量	3	0.972 ± 0.063	0.937 ± 0.041	0.854 ± 0.109
中剂量	3	0.942 ± 0.046	0.842 ± 0.025	0.719 ± 0.087 [△]
高剂量	3	0.918 ± 0.057	0.363 ± 0.125 [△]	0.462 ± 0.074 [△]

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.01$

白表达水平比较 (图 3, 表 4) IL-1 β 刺激 SW1353 细胞 30 min 后, 与正常组比较, 模型组细胞核内 NF- κ B p65 蛋白表达显著增加 ($P < 0.01$), 细胞浆中 I κ B- α 蛋白表达明显减少 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 补骨脂中剂量组细胞浆中 I κ B- α 蛋白表达增加 ($P < 0.05$), 补骨脂高剂量组细胞核内 NF- κ B p65 蛋白表达明显减少 ($P < 0.01$), 细胞浆中 I κ B- α 蛋白表达显著增加 ($P < 0.01$)。



注: 1 为正常组; 2 为模型组; 3 为补骨脂低剂量组; 4 为补骨脂中剂量组; 5 为补骨脂高剂量组; Lamin B1 为细胞核内参; β -actin 为细胞浆内参

图 3 各组 SW1353 细胞核内 NF- κ B p65 及细胞浆内 I κ B- α 电泳图

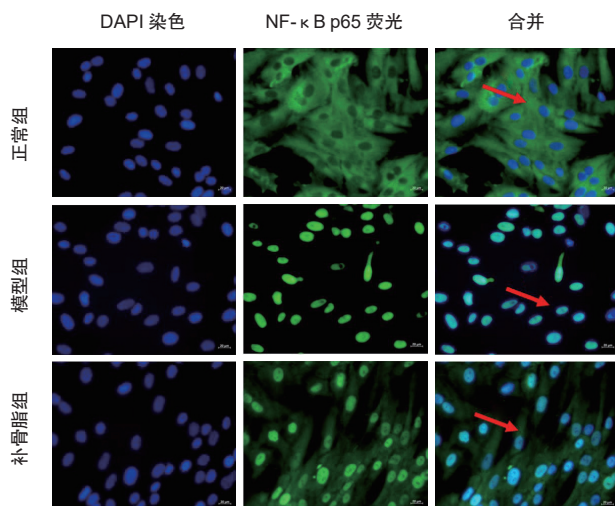
表 4 各组细胞核内 NF- κ B p65 与细胞浆内 I κ B- α 蛋白表达水平比较 (灰度值, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	NF- κ B p65/Lamin B1	I κ B- α / β -actin
正常	3	0.142 ± 0.019	1.000 ± 0.000
模型	3	1.000 ± 0.000*	0.518 ± 0.062*
补骨脂低剂量	3	0.976 ± 0.073	0.535 ± 0.079
中剂量	3	0.854 ± 0.105	0.716 ± 0.042 [△]
高剂量	3	0.613 ± 0.100 ^{△△}	0.854 ± 0.068 ^{△△}

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$

4 各组 SW1353 细胞 NF- κ B p65 蛋白免疫荧光结果 (图 4) 使用 3 600 mg/L 补骨脂预处理 SW1353 细胞 1 h, 加入 10 ng/mL IL-1 β 刺激 30 min 后, 免疫荧光结果提示, 正常组 NF- κ B p65 蛋白均匀表达于胞浆中, IL-1 β 刺激 SW1353 细胞 30 min 后, 模型组胞浆中 NF- κ B p65 蛋白全部转移至细胞核内,

而补骨脂干预组细胞浆中 NF- κ B p65 蛋白仅部分转移至细胞核内。



注：箭头表示细胞浆内 NF- κ B p65 蛋白表达

图 4 各组 SW1353 细胞 NF- κ B p65 蛋白免疫荧光结果比较

讨 论

补骨脂是豆科植物补骨脂 *psoralea corylifolia* L. 的种子，具有补肾壮阳的功效。《本草经解》指出补骨脂入足少阴肾经^[14]。《开宝本草》曰补骨脂“主五劳七伤，风虚冷，骨髓伤败，肾冷精流”^[14]。《中华本草》曰补骨脂可治腰疼^[15]。清代医家林佩琴以补骨脂为主要药物之一创立安肾丸治疗骨痹^[16]。现代医家更创立了一系列含补骨脂的良好中药复方制剂治疗骨痹，如仙灵骨葆胶囊、骨痹通方、补肾活血方等^[8-10]。课题组前期随机对照临床研究发现，以补骨脂为主要成分的骨痹通方与盐酸氨基葡萄糖相比，能显著降低膝 OA 患者的西安大略和麦克马斯特大学关节炎指数 (the Western Ontario and McMaster Universities Arthritis Index, WOMAC) 评分和关节疼痛视觉模拟评分 (visual analogue scale, VAS)，并能减少抗炎止疼药的用量^[8]。有实验研究发现，补骨脂的主要成分之一补骨脂素防治 OA 的机制可能与上调 RUNX2 基因和蛋白表达，激活 Wnt/ β -catenin 信号通路促进软骨细胞增殖有关^[17, 18]。然而，补骨脂治疗 OA 的潜在作用机制尚未被完全阐明。

有研究发现，IL-1 β 诱导 SW1353 细胞可表现出 OA 样炎症反应，适用于 OA 体外细胞实验研究^[11, 12]。软骨细胞外基质合成与降解失衡是造成软骨变性、破坏的重要原因之一，MMPs 可能在其中起着决定性作用^[3, 19]。OA 状态下，软骨细胞异常肥大，凋亡增加，不仅不能有效合成细胞外基质，还释放多种 MMPs，导致基质降解丢失^[19]。MMP3 是重要的基质溶解酶，

主要表达于退变的软骨细胞中，参与蛋白聚糖、纤维连接素、层粘连蛋白等多种软骨基质的降解^[3]；MMP13 是最强效的 II 型胶原裂解酶^[3]，能降解软骨基质中含量最多的 II 型胶原。本研究首次采用补骨脂干预 IL-1 β 诱导的 SW1353 细胞，观察补骨脂对该模型细胞 MMPs 及 NF- κ B 表达的影响，发现补骨脂能降低 OA 细胞模型中 MMP-3、MMP-13 mRNA 和蛋白表达，提示补骨脂可能通过抑制 MMP-3、MMP-13 的表达来抑制软骨基质降解。

NF- κ B 是广泛存在于真核细胞内的一种多功能转录因子，一直是免疫、炎症等领域的研究热点^[20]。NF- κ B 家族成员中以 NF- κ B p65 最常见且功能最广泛。I κ B- α 是最常见的 NF- κ B 抑制蛋白，可以快速结合 NF- κ B p65 使其以非活性状态存在于细胞核外。长期以来，NF- κ B 通路被认为是调节软骨分解代谢，参与 OA 发病、进展的重要通路^[4, 21]。有研究发现，OA 患者肌肉组织中 NF- κ B p65 水平约是健康人的 2.5 倍^[22]；OA 患者不同疾病阶段，关节滑膜组织中 NF- κ B 水平均升高，早期以 NF- κ B p65 升高最显著^[23]。在刺激因子作用下，NF- κ B 与 I κ B 解离，前者转移至细胞核内，通过诱导一系列基因表达，引起关节软骨基质降解，软骨细胞变性、凋亡，因此干扰 NF- κ B 信号被认为是 OA 治疗的潜在靶点^[24]。本研究发现，补骨脂能在一定程度上抑制 OA 细胞模型胞浆中 NF- κ B p65 蛋白核移位，降低胞核内 NF- κ B p65 蛋白水平，增加胞浆中 I κ B- α 蛋白水平，提示补骨脂能通过抑制 NF- κ B p65 活化，起到保护软骨的作用。

综上所述，补骨脂干预 OA 的作用机制可能与抑制 NF- κ B 通路，下调 MMP-3、MMP-13 表达，抑制软骨基质降解，延缓软骨退变有关，可进一步开展动物实验验证。

利益冲突：无。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会骨科学分会关节外科学组. 骨关节炎诊疗指南 (2018 年版) [J]. 中华骨科杂志, 2018, 38 (12): 705-715.
- [2] Shi Y, Hu X, Cheng J, et al. A small molecule promotes cartilage extracellular matrix generation and inhibits osteoarthritis development [J]. Nat Commun, 2019, 10 (1): 1914.
- [3] Mehana EE, Khafaga AF, El-Blehi SS. The role

- of matrix metalloproteinases in osteoarthritis pathogenesis: an updated review[J]. Life Sci, 2019, 234: 116786.
- [4] Deng Y, Lu J, Li W, et al. Reciprocal inhibition of YAP/TAZ and NF- κ B regulates osteoarthritic cartilage degradation[J]. Nat Commun, 2018, 9 (1): 4564.
- [5] 周学平, 方樑, 张硕, 等. 国医大师周仲瑛从肾虚络痹辨治骨关节炎经验述要[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33 (3): 948-951.
- [6] 李楠, 林昌松, 姜玉宝. 补肾化痰法治疗骨关节炎经验[J]. 中医杂志, 2016, 57 (23): 2047-2048.
- [7] 秦楚, 李沛. 补肾中药干预骨关节炎的机理研究进展[J]. 中医学报, 2012, 27 (1): 76-78.
- [8] Wang F, Shi L, Zhang Y, et al. A traditional herbal formula Xianling Gubao for pain control and function improvement in patients with knee and hand osteoarthritis: a multicenter, randomized, open-label, controlled trial[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2018: 1827528.
- [9] Tao QW, Xu Y, Jin DE, et al. Clinical efficacy and safety of Gubitong Recipe in treating osteoarthritis of knee joint[J]. Chin J Integr Med, 2009, 15 (6): 458-461.
- [10] 郑陶, 许治国, 许志宇, 等. 补肾活血方治疗膝骨关节炎临床疗效[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37 (6): 1506-1509.
- [11] Zeng L, Wang W, Rong XF, et al. Chondroprotective effects and multi-target mechanisms of icariin in IL-1 beta-induced human SW1353 chondrosarcoma cells and a rat osteoarthritis model[J]. Int Immunopharmacol, 2014, 18 (1): 175-181.
- [12] 刘晓彤, 黄悦, 刘旭丹, 等. 应用原代软骨细胞与 SW1353 软骨肉瘤细胞系建立体外骨关节炎模型的效果评价[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2018, 27 (5): 459-464.
- [13] Chen GY, Chen JQ, Liu XY, et al. Total flavonoids of *Rhizoma Drynariae* restore the MMP/TIMP balance in models of osteoarthritis by inhibiting the activation of the NF- κ B and PI3K/AKT pathways[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2021: 1-14.
- [14] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 第2版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 1647.
- [15] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(第四册)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 606.
- [16] 葛伟韬, 高云, 刘珍珠, 等. 膝骨关节炎中医病名辨识[J]. 中医杂志, 2016, 57 (23): 1989-1992.
- [17] 李佳, 朱爱松, 谢晚晴, 等. 关于补肾中药防治骨关节炎分子机制的体外实验研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2016, 22 (7): 877-882.
- [18] Zheng W, Lin P, Ma Y, et al. Psoralen promotes the expression of cyclin D1 in chondrocytes via the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Int J Mol Med, 2017, 40 (5): 1377-1384.
- [19] Shi Y, Hu X, Cheng J, et al. A small molecule promotes cartilage extracellular matrix generation and inhibits osteoarthritis development[J]. Nat Commun, 2019, 10 (1): 1914.
- [20] Zhang Q, Lenardo MJ, Baltimore D. 30 years of NF- κ B: a blossoming of relevance to human pathobiology[J]. Cell, 2017, 168 (1-2): 37-57.
- [21] Saito T, Tanaka S. Molecular mechanisms underlying osteoarthritis development: Notch and NF- κ B[J]. Arthritis Res Ther, 2017, 19 (1): 94.
- [22] Levinger I, Levinger P, Trenerry MK, et al. Increased inflammatory cytokine expression in the vastus lateralis of patients with knee osteoarthritis[J]. Arthritis Rheum, 2011, 63 (5): 1343-1348.
- [23] Benito MJ, Veale DJ, FitzGerald O, et al. Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2005, 64 (9): 1263-1267.
- [24] Choi MC, Jo J, Park J, et al. NF- κ B signaling pathways in osteoarthritic cartilage destruction[J]. Cells, 2019, 8 (7): 734.

(收稿: 2021-01-19 在线: 2021-07-20)

责任编辑: 段碧芳
英文责编: 张晶晶