doi:10.11659/jjssx.10E020002

·基础研究·

山竹醇通过 NF-κB 信号通路抑制 IL-1β 诱导的髓核细胞炎症和细胞外基质降解

张顺利,顾运涛,陈 荣,赵 海 (海南医学院第二附属医院骨科一区,海南 海口 570102)

[摘 要] **目的** 探讨山竹醇(Gar)对白介素-1β(IL-1β)诱导的髓核细胞炎症和细胞外基质降解的影响。**方法** 提取大鼠髓核细胞,用含不同浓度山竹醇联合或者不联合 IL-1β 的新鲜培养基进行培养,根据细胞处理方式分为 Control 组、IL-1β 组、IL-1β + Gar 2.5 μM 组、IL-1β + Gar 5 μM 组。采用 MTT 法检测大鼠髓核细胞活力,采用 Western blot、定量 RT-PCR 和免疫荧光染色检测大鼠髓核细胞的基质代谢、炎症因子水平及相关信号通路蛋白。**结果** 山竹醇在 0 ~ 10 μM 剂量下对大鼠髓核细胞无细胞毒性;IL-1β可诱导髓核细胞活力降低($P < 0.05$),剂量为 2.5 ~ 10 μM 的山竹醇能够改善 IL-1β 刺激下的髓核细胞活力($P < 0.05$)。IL-1β刺激后髓核细胞中 MMP-3、MMP-9、MMP-13、ADAMTS-4 和 ADAMTS-5 mRNA 表达水平显著提高($P < 0.05$),而山竹醇能抑制 IL-1β 刺激后的髓核细胞中 MMP-3、MMP-9、MMP-13、ADAMTS-4 和 ADAMTS-5 mRNA 表达水平($P < 0.05$)。IL-1β 下调了髓核细胞中Col Ⅱ和Aggrecan mRNA 表达水平($P < 0.05$),而山竹醇则显著改善了 IL-1β 刺激下髓核细胞中 Col Ⅱ和 Aggrecan mRNA 表达水平($P < 0.05$)。IL-1β 可显著提高髓核细胞中 TNF-α、IL-6、IL-8、COX-2 和 iNOS mRNA 表达水平($P < 0.05$),而山竹醇可抑制 IL-1β 诱导的 TNF-α、IL-6、IL-8、COX-2 和 iNOS mRNA 表达水平($P < 0.05$)。Western blot 结果显示,IL-1β 激活了髓核细胞中的 NF-κB 信号通路,而山竹醇逆转了 IL-1β 对 NF-κB p65 的活化作用($P < 0.05$),同时逆转了 IL-1β 引起的 IκBα 蛋白水平降低($P < 0.05$)。免疫荧光染色结果显示,IL-1β 刺激下髓核细胞核中发生 p65 核转移,山竹醇显著抑制了 p65 向核的转移。**结论** 山竹醇可通过抑制 NF-κB 信号通路,减轻 IL-1β 诱导的大鼠髓核细胞炎症反应,降低分解代谢水平,具有治疗椎间盘退行性变(IDD)的潜能。

[关键词] NF-κB;炎症;山竹醇;椎间盘退行性变;基质代谢

[中图分类号] R681 [文献标识码] A [收稿日期] 2020-10-03

Garcinol inhibiting the inflammation and extracellular matrix degradation in IL-1β induced nucleus pulposus cells through NF-κB signaling pathway

ZHANG Shun-li, GU Yun-tao, CHEN Rong, ZHAO Hai (Department of Orthopaedics Area I, Second Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou Hainan 570102, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of garcinol (Gar) on the inflammation and extracellular matrix degradation in nucleus pulposus cells induced by Interleukin-1β (IL-1β). **Methods** The rat nucleus pulposus cells were extracted and cultured with fresh media

[基金项目] 海南省自然科学基金(18A200111);海南医学院科研培育基金(HYPY201925)

[通信作者] 赵 海,E-mail:zhaohai201808@163.com

[12] 王程强,欧超燕,施文祥,等. 茶多酚对铝致大鼠睾丸支持细胞损伤的拮抗作用研究[J]. 重庆医学,2016,45(22):3031 - 3033. doi:10.3969/j.issn.1671 - 8348.2016.22.003.

[13] Rahman SU, Huang Y, Zhu L, et al. Therapeutic role of green tea polyphenols in improving fertility: a review[J]. Nutrients, 2018, 10(7): 834 - 837. doi:10.3390/nu10070834.

[14] Shin EJ, Tran HQ, Nguyen PT, et al. Role of mitochondria in methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity: involvement in oxidative stress, neuroinflammation, and pro-apoptosis: a review[J]. Neurochem Res, 2018, 43(1): 66 - 78. doi:10.1007/s11064 - 017 - 2318 - 5.

[15] Celik-Ozenci C, Kuscu N, Gungor-Ordueri NE, et al. Inhibition of poly (ADP-ribose) polymerase may have preventive potential for varicocoele-associated testicular damage in rats[J]. Andrology, 2017, 5(2): 362 - 369. doi:10.1111/andr.12305.

[16] Samanta L, Agarwal A, Swain N, et al. Proteomic signatures of sperm mitochondria in varicocele: clinical use as biomarkers of varicocele associated infertility[J]. J Urol, 2018, 200(2): 414 - 422. doi:10.1016/j.juro.2018.03.009.

[17] Al-Obaidy KI, Idrees MT, Grignon DJ, et al. Adenocarcinoma of the rete testis: clinicopathologic and immunohistochemical characterization of 6 cases and review of the literature[J]. Am J Surg Pathol, 2019, 43(5): 670 - 681. doi:10.1097/PAS.0000000000001219.

[18] 周 进,黄文涛,代能捷,等. EGCG 调控 miR-133a/b-3p 和 TGF-β1/Smad3 抗慢性阻塞性肺疾病的作用研究[J]. 中药材,2018,2(2):437 - 441. doi:10.13863/j.issn1001 - 4454.2018.02.042.

[19] Abdel-Hamid AAM, Atef H, Zalata KR, et al. Correlation between testicular mast cell count and spermatogenic epithelium in non-obstructive azoospermia[J]. Int J Exp Pathol, 2018, 99(1): 22 - 28. doi:10.1111/iep.12261.

[20] 席俊彦,庾镇藩,杨 莹,等. 茶多酚对 L-精氨酸诱导的小鼠急性胰腺炎的影响及机制分析[J]. 湘南学院学报(医学版),2018,20(4):28 - 31. doi:10.16500/j.cnki.1673 - 498x.2018.04.007.

[21] 张玉森,董瑞瑞,杨 倩,等. 茶多酚联合原花青素改善 AD 大鼠记忆作用及机制[J]. 中国公共卫生,2019,35(3):304 - 308. doi:10.11847/zgggws1121357.

(编辑:杨 颖)

containing different concentrations of garcinol with or without IL-1β, and the nucleus pulposus cells were divided into the Control group, the IL-1β group, the IL-1β + Gar 2.5 μM group and the IL-1β + Gar 5 μM group according to cell processing methods. Cell viability of rat nucleus pulposus cells was detected by MTT method, and the matrix metabolism, levels of inflammatory factors and proteins of the related signaling pathway were detected by Western blot, quantitative RT-PCR and immunofluorescence staining. **Results** Garcinol had no cytotoxicity to rat nucleus pulposus cells at the concentration of 0 μM to 10 μM; IL-1β could induce a decrease in the viability of nucleus pulposus cells ($P<0.05$), and garcinol at the concentration of 2.5 μM to 10 μM could improve the viability of nucleus pulposus cells simulated by IL-1β ($P<0.05$). The mRNA expression levels of MMP-3, MMP-9, MMP-13, ADAMTS-4, and ADAMTS-5 in nucleus pulposus cells were significantly increased after IL-1β stimulation ($P<0.05$), while garcinol could inhibit the mRNA expression levels of MMP-3, MMP-9, MMP-13, ADAMTS-4, and ADAMTS-5 after IL-1β stimulation ($P<0.05$). IL-1β down-regulated the mRNA expression levels of Col Ⅱ and Aggrecan in nucleus pulposus cells ($P<0.05$), while garcinol significantly improved the mRNA expression levels of Col Ⅱ and Aggrecan in nucleus pulposus cells stimulated by IL-1β ($P<0.05$). IL-1β could significantly increase the mRNA expression levels of TNF-α, IL-6, IL-8, COX-2 and iNOS in nucleus pulposus cells ($P<0.05$), while garcinol could inhibit the mRNA expression levels of TNF-α, IL-6, IL-8, COX-2 and iNOS stimulated by IL-1β ($P<0.05$). Western blot results showed that IL-1β activated the NF-κB signaling pathway in nucleus pulposus cells, while garcinol reversed the activation function of IL-1β on NF-κB p65 ($P<0.05$), and reversed the decrease of the level of IκBα protein stimulated by IL-1β at the same time ($P<0.05$). Immunofluorescence staining results showed that IL-1β stimulated p65 nuclear transfer occurred in the nucleus pulposus cells, but garcinol significantly inhibited the transfer of p65 to the nucleus. **Conclusion** Garcinol can reduce the inflammatory response and the catabolism level in rat nucleus pulposus cells induced by IL-1β through NF-κB signaling pathway, which has the potential to treat intervertebral disc degeneration (IDD).

Keywords: NF-κB; inflammation; garcinol; intervertebral disc degeneration; matrix metabolism

椎间盘退行性变(intervertebral disc degeneration, IDD)是一种常见的脊柱复杂疾病,会导致患者脊柱功能障碍和生活质量降低[1]。IDD 常引起下腰痛,这是中老年群体中常见的症状,可造成巨大的社会负担[2]。正常的髓核可维持椎间盘的结构和功能,髓核衰老和功能受损是 IDD 发生的潜在原因[3]。有研究发现,在 IDD 过程中存在细胞外基质丢失、正常椎间盘髓核细胞表型改变、促炎细胞因子释放等现象,而干预髓核细胞的改变可以延缓椎间盘退变的进程[4-5]。有研究表明,多种炎性细胞因子的表达增加都与 IDD 的发生有关,白细胞介素(interleukin-1β, IL-1β)与肿瘤坏死因子-α(tumour necrosis factor-alpha, TNF-α)在 IDD 患者的髓核和纤维环细胞中表达均增加[6]。IL-1β与 TNF-α 可通过增加其他细胞因子的水平,诱导 ADAMTS-4、ADAMTS-5 和 MMPs 的表达,并抑制细胞外基质的合成[7-9]。有研究发现,山竹醇具有广泛的生物活性,包括抗氧化、抗炎、神经保护、抗菌等[10-14]。饲粮中添加山竹醇可通过改善仔猪的抗氧化能力,改变应激导致的脂质代谢紊乱,从而保护肝[13-14]。同时,山竹醇可通过抑制 IL-1β 诱导的软骨细胞炎症,发挥治疗骨关节炎的作用[10]。然而,山竹醇对椎间盘退行性变的治疗作用尚不明确。因此,本研究通过探讨山竹醇对 IL-1β 刺激的髓核细胞的保护作用,及对其炎症反应和相应基质代谢水平的作用,以期为临床治疗 IDD 提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物及试剂

SD 大鼠(2 个月龄)购自中国科学院动物中心(上海),山竹醇购自 Sigma Aldrich 公司,重组大鼠 IL-1β 购自 Pepro Tech 公司,一抗 p-p65、p65、抗 IκBα 和抗 β-actin 抗体购自 Abcam 公司。所有动物实验均经海南医学院伦理委员会批准。

1.2 大鼠髓核细胞培养及处理

大鼠髓核细胞分离和培养的步骤参考文献[15]。SD 大鼠用过量戊巴比妥钠安乐死,在无菌条件下收集 L_1 ~ L_5段腰椎间盘。解剖显微镜下从腰椎间盘中分离髓核组织,用 0.25% 胰蛋白酶及 0.1% Ⅱ型胶原酶于 37 ℃处理 4 h,然后用含有 1% 青链霉素的 DMEM/F12 进行培养,每隔 1 d 更换 1 次完整的培养基。使用传代至第二代的髓核细胞进行后续实验。

1.3 MTT 法检测髓核细胞活力

将大鼠髓核细胞接种于 96 孔板中,每孔 8 000 个。培养 24 h 后,根据细胞贴壁时间的不同,用含不同浓度(0、1、2.5、5、10 μM)山竹醇(溶于 DMSO)联合或不联合 IL-1β 的新鲜培养基进行培养。向每个孔中加入 10 μL MTT 溶液,细胞培养箱中孵育 4 h,使用酶标仪在 OD 570 nm 处测量每孔的吸光度值。

1.4 Western blot 检测相关蛋白表达

用含不同浓度山竹醇(0、2.5、5 μM)联合或不联合 IL-1β 的新鲜培养基进行培养,分为 Control 组、

IL-1β组、IL-1β + Gar 2.5 μM 组和 IL-1β + Gar 5 μM 组，其中 Control 组用 0 μM 山竹醇不联合 IL-1β 处理髓核细胞，IL-1β 组用 0 μM 山竹醇联合 IL-1β 处理髓核细胞，IL-1β + Gar 2.5 μM组用 2.5 μM 山竹醇联合 IL-1β 处理髓核细胞，IL-1β + Gar 5 μM 组用 5 μM 山竹醇联合 IL-1β 处理髓核细胞，并用细胞裂解缓冲液收集。在冰上用细胞裂解液孵育 30 min 后，以 12 000 r/min 离心 20 min，收集上清液，测量蛋白质浓度，配制蛋白上样标准品。蛋白质(40 μg)在 10% ~12% SDS-PAGE 凝胶上分离，转载至 PVDF 膜上。将 PVDF 膜用封闭缓冲液孵育 1 h，用 p65(1∶1 000)、p-p65(1∶1 000)、IκBα(1∶1 000)和 β-actin(1∶1 000)的一抗溶液孵育过夜，然后与相应的二抗孵育 1 h。通过 ECL-Western 印迹试剂盒检测条带，并利用 ChemiDicTM XRS 成像系统对目标条带进行曝光，同时利用 Image J 图像分析软件进行统计。

1.5 定量 RT-PCR 检测靶基因 mRNA 表达

为了研究山竹醇是否能调节 IL-1β 刺激下的髓核细胞分解代谢水平，本研究检测了 MMP-3、MMP-9、MMP-13、ADAMTS-4 和 ADAMTS-5 mRNA 水平的表达。为了进一步研究山竹醇对髓核细胞基质代谢水平的影响，本研究检测了山竹醇对 IL-1β 刺激下的髓核细胞中细胞外基质蛋白(Col Ⅱ和 Aggrecan)mRNA 的表达水平的影响。用 TRIzol 法提取各组髓核细胞总 RNA，用 1 μg 总 RNA 逆转录合成 cDNA，用 PrimeScript RT-PCR 试剂盒和 SYBR premix Ex Taq(Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, Germany)预混料进行 cDNA的合成和扩增。用 DDCt 法计算各靶基因 mRNA 水平，并将其标准化为内参基因(β-actin)的相对水平。具体引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因名称	正向	反向
MMP-3	5′-CTGGGCTATCCGAGGTCATG-3′	5′-TGGACGGTTTCAGGGAGGC-3′
MMP-9	5′-GGATGTTTTTGATGCCATTGCTG-3′	5′-CCACGTGCGGGCAATAAGAAAG-3′
MMP-13	5′-CTGGCCTGCTGGCTCATGCTT-3′	5′-GCAGGGTCCTTGGAGTGGTCA-3′
ADAMTS-4	5′-CTACAACCACCGAACCGAC-3′	5′-TGCCAGCCACCAGAACTT-3′
ADAMTS-5	5′-GGCTGTGGTGTGCTGTG-3′	5′-CTGGTCTTTGGCTTTGAAC-3′
Col Ⅱ	5′-AGAACTGGTGGAGCAGCAAGA-3′	5′-ATCTGGACGTTAGCGGTGTTG-3′
Aggrecan	5′-CCCTCACCCCAAGAATCAAGT-3′	5′-TCATTGGAGCGAAGGTTCTGG-3′
TNF-α	5′-AGTCCGGGCAGGTCTACTTT-3′	5′-TTCAGCGTCTCGTGTGTTTC-3′
IL-6	5′-AGGAACGAAAGTCAACTCCATCTG-3′	5′-GGCAGTGGCTGTCAACAACATC-3′
IL-8	5′-CAGAGACTTGGGAGCCACTC-3′	5′-GCTGAAATTATCCACCCTGATT-3′
COX-2	5′-TGAGTACCGCAAACGCTTCTC-3′	5′-TGGACGAGGTTTTTCCACCAG-3′
iNOS	5′-GCTCGGGCTGAAGTGGTATGC-3′	5′-GAAGTCTCGGACTCCAATCTCGGT-3′

1.6 免疫荧光染色检测观察 p65 核转移

P65 染色时将髓核细胞接种于 6 孔板载玻片上 24 h，每孔 1×10^5/mL。用含不同浓度山竹醇(0、5 μM)联合或不联合 IL-1β 的新鲜培养基进行培养，分为 Control 组(0 μM 山竹醇不联合 IL-1β)、IL-1β 组(0 μM 山竹醇联合 IL-1β)、以及 IL-1β + Gar 5 μM 组(5 μM山竹醇联合 IL-1β)。细胞处理后用4% 多聚甲醛固定细胞 15 min，用 0.1% Triton X-100 孵育 5 min，用 10% 牛血清白蛋白于 37 ℃封闭 1 h 后，用抗p65(1∶500)的一抗孵育过夜，然后用相应的二抗孵育 1 h。用 DAPI 染色 7 min，在激光共聚焦显微镜下观察。

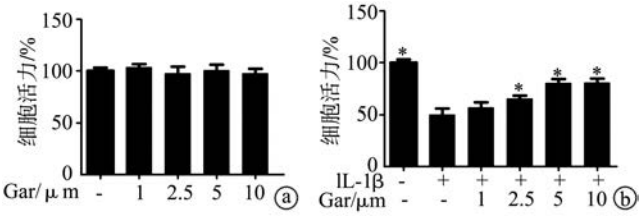
1.7 统计学分析

采用 SPSS 18.0 统计软件对数据进行分析。所有实验至少进行 3 次独立样本试验。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。各组间差异采用单因素方差分析及 Tukey's post-hoc test 进行比较。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 山竹醇抑制髓核细胞凋亡

MTT 法检测结果显示，山竹醇在 0 ~ 10 μM 剂量下对大鼠髓核细胞无细胞毒性；IL-1β 可诱导髓核细胞活力降低($P<0.05$)，剂量为 2.5 ~ 10 μM 的山竹醇能够改善 IL-1β 刺激下的髓核细胞活力($P<0.05$)，见图 1。因此，取山竹醇 2.5、5 μM 剂量用于实验。



a:一定浓度梯度的山竹醇对大鼠髓核细胞活力的影响；b:山竹醇对 IL-1β 刺激下髓核细胞活力的影响 *:与仅 IL-1β 刺激比较，$P<0.05$

图 1 山竹醇对大鼠髓核细胞的作用

2.2 山竹醇抑制 IL-1β 刺激的髓核细胞分解代谢活性

IL-1β 刺激后髓核细胞中 MMP-3、MMP-9、MMP-13、ADAMTS-4 和 ADAMTS-5 mRNA 表达水平显著提高($P<0.05$)，而山竹醇能抑制 IL-1β 刺激后的髓核细胞中 MMP-3、MMP-9、MMP-13、ADAMTS-4 和 ADAMTS-5 mRNA 表达水平($P<0.05$)，见图 2。

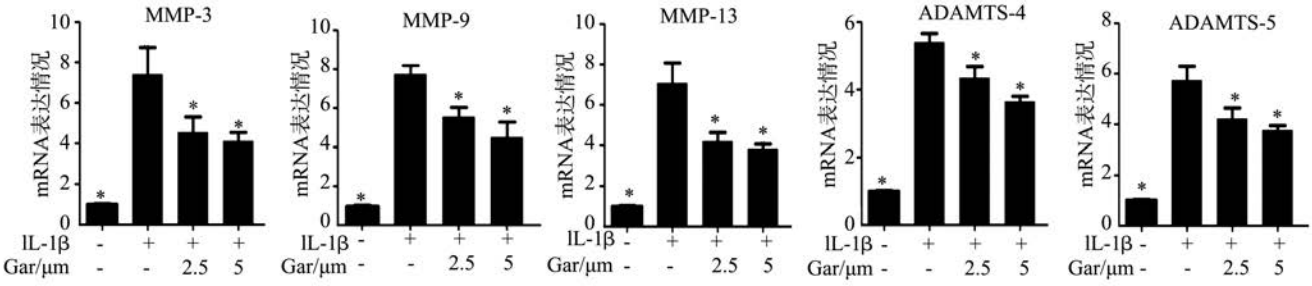
2.3 山竹醇改善 IL-1β 刺激后的细胞外基质水平

IL-1β 下调了髓核细胞中 Col Ⅱ和 Aggrecan mRNA表达水平($P<0.05$)，而山竹醇则显著改善了 IL-1β刺激下髓核细胞中 Col Ⅱ和 Aggrecan mRNA 表

达水平($P<0.05$),见图3。

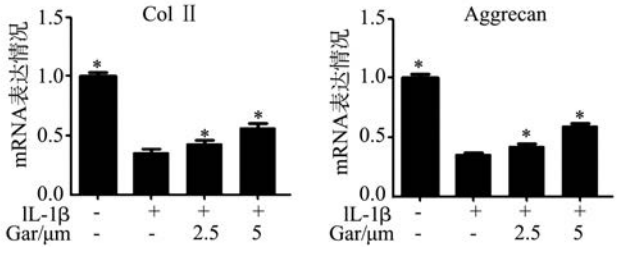
2.4 山竹醇抑制 IL-1β 刺激的髓核细胞中炎症因子水平增高

定量 RT-PCR 检测结果显示,IL-1β 可显著提高髓核细胞中 TNF-α、IL-6、IL-8、COX-2 和iNOS mRNA表达水平($P<0.05$);而山竹醇可抑制 IL-1β 诱导的 TNF-α、IL-6、IL-8、COX-2 和 iNOS mRNA 表达水平($P<0.05$),见图4。



*:与 IL-1β 组比较,$P<0.05$

图2 山竹醇抑制 IL-1β 刺激的大鼠髓核细胞分解代谢活性

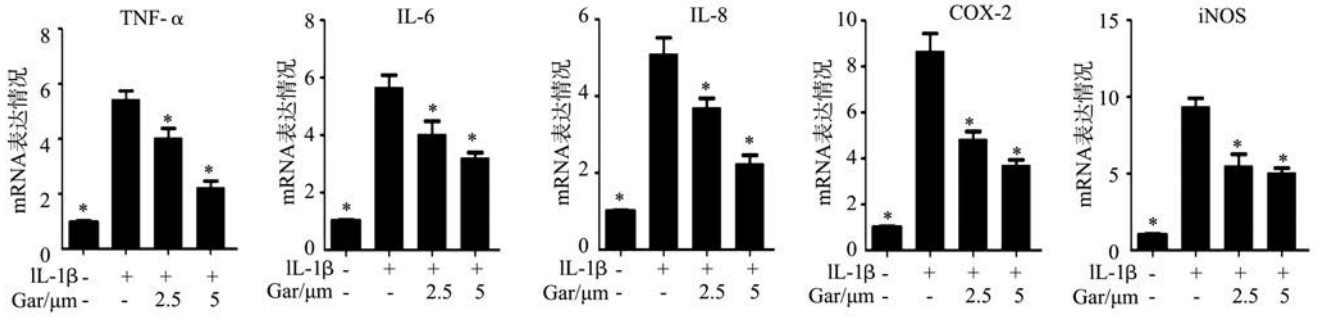


*:与 IL-1β 组比较,$P<0.05$

图3 山竹醇改善 IL-1β 刺激的大鼠髓核细胞外基质水平

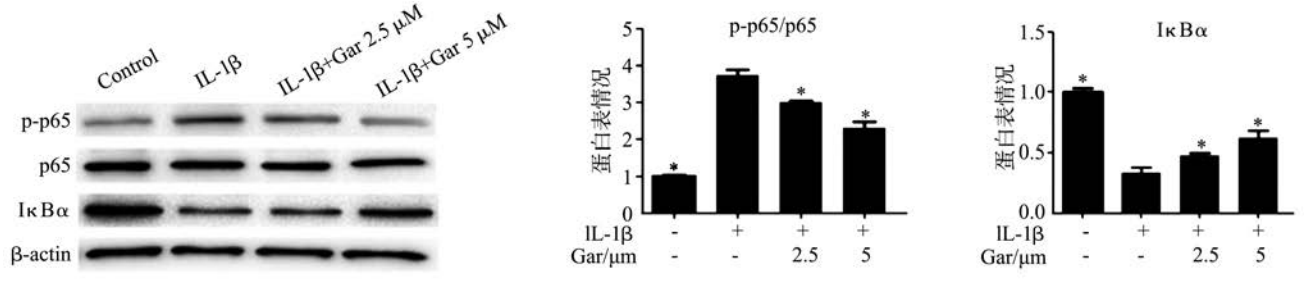
2.5 山竹醇抑制 IL-1β 刺激的髓核细胞中 NF-κB 信号通路

Western blot 结果显示,IL-1β 激活了髓核细胞中的 NF-κB 信号通路,而山竹醇逆转了 IL-1β 对 NF-κB p65 的活化作用($P<0.05$),同时逆转了 IL-1β 引起的 IκBα 蛋白水平降低($P<0.05$),见图5。免疫荧光染色结果显示,IL-1β 刺激下髓核细胞核中发生 p65 核转移,山竹醇显著抑制了 p65 向核的转移(图6)。



*:与 IL-1β 组比较,$P<0.05$

图4 山竹醇抑制 IL-1β 刺激的大鼠髓核细胞中炎症因子水平的表达



*:与 IL-1β 组比较,$P<0.05$

图5 山竹醇抑制 IL-1β 刺激的髓核细胞中 NF-κB 信号通路

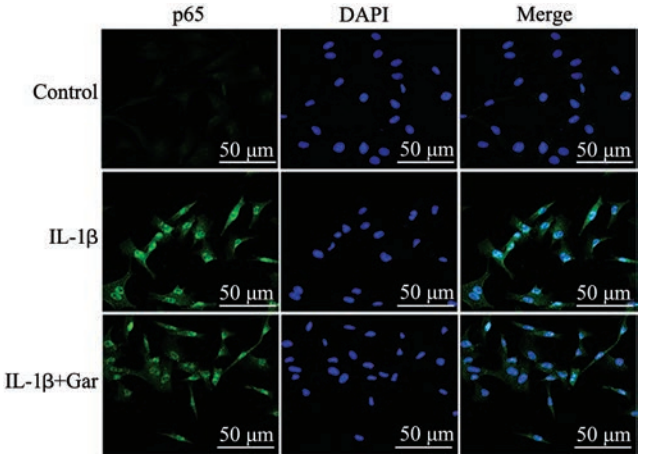


图 6 免疫荧光观察 p65 核转移(绿色:p65;蓝色:细胞核)

3 讨论

IDD 发生在自然衰老过程中,是中老年人下腰痛最常见的原因,会造成巨大的社会经济负担[3]。已有研究表明炎症及细胞外基质降解与 IDD 的病理过程有关[5,16]。基质蛋白的丢失伴随着基质分解酶的上调,从而减弱了细胞外基质的吸水性,导致髓核水分含量减少和椎间盘压力下降[17]。MMPs(MMP-1、MMP-3、MMP-7、MMP-9、MMP-13、ADAMTS-4 和 ADAMTS-5)在 IDD 过程中的蛋白水解酶作用是导致主要细胞外基质蛋白 Col Ⅱ和 Aggrecan 降解的主要因素。MMP-3、MMP-9 和 MMP-13 是 IDD 过程中导致 Col Ⅱ降解的关键酶,而 ADAMTS-4 和 ADAMTS-5 是导致 Aggrecan 降解的关键酶[18-20]。在 IDD 过程中,IL-1β 和其他促炎因子上调,促炎因子的表达触发了蛋白水解酶的产生,从而破坏了椎间盘内细胞外基质的稳态[21]。有研究表明,IL-1β 可上调椎间盘中 MMP-3、MMP-13、ADAMTS-4、ADAMTS-5 等分解代谢酶的表达[21-22]。本研究发现,IL-1β 通过增加 MMP-3、MMP-9、MMP-13、ADAMTS-4 和 ADAMTS-5 的表达来增强蛋白水解作用,而山竹醇则可使上述指标的表达下降;同时,山竹醇可上调 IL-1β 刺激后的髓核细胞主要细胞外基质蛋白(Col Ⅱ和 Aggrecan)的基因表达。以上均表明,山竹醇可能在 IL-1β 刺激的髓核细胞中具有抗分解代谢作用,可保护基质蛋白免受降解。

有研究表明炎症与 IDD 的进展有关[23]。多种炎性细胞因子的表达增加与 IDD 变性的发生有关。在 IDD 过程中,促炎症因子 IL-1β、TNF-α 和 IL-6 刺激髓核细胞产生更多的炎症因子,导致细胞外基质降解酶升高,细胞外基质降解。促炎症因子,尤其是 TNF-α 和 IL-1β,在 IDD 中起重要作用[24]。有研究表明,IL-1β能够上调细胞外基质降解酶,包括 MMPs、ADAMTS,导致Ⅱ型胶原和蛋白多糖降解,最后髓核由于失去细胞外基质而严重降低保水能力,造成椎间盘内压力下降,功能受损[25]。在一项对猪的研究中发现,椎间盘内注射 TNF-α 可导致 IDD[26]。而相关研究发现,山竹醇具有广泛的生物活性,包括抗氧化、抗炎、神经保护、抗菌[10-14]。饲粮添加山竹醇可通过提高仔猪的抗氧化能力,改善应激导致的脂质代谢情况,从而保护肝[13-14]。山竹醇可通过抑制小胶质细胞神经炎症因子的表达,治疗相关的神经病理性疼痛[11]。同时,山竹醇可通过抑制 IL-1β 诱导的软骨细胞炎症,治疗骨关节炎[10]。本研究结果显示,山竹醇可降低 iNOS、COX-2、IL-6、IL-8 和 TNF-α 表达水平,这提示山竹醇可抑制 IDD 过程中的炎症反应。

NF-κB 是 IDD 进展过程中的关键分子。有研究发现,IL-1β 可诱导 NF-κB 磷酸化[27-28]。NF-κB 信号通路是 IDD 过程中一个重要的信号通路,具有诱导基质降解、促进炎症和抑制细胞外基质合成的能力[29]。NF-κB 通常位于细胞质中,并与 IκBα 结合,IL-1β 的刺激可释放 NF-κB,并促进 NF-κB 从细胞质向细胞核转移,随后促进炎症因子(如 MMPs、iNOS、COX2 和 IL-6等)的表达[30-31]。山竹醇可通过抑制 NF-κB 信号通路,从而抑制 IL-1β 诱导的软骨细胞炎症和骨关节炎[20]。本研究结果显示,山竹醇可通过抑制 IκBα 的降解,显著抑制 IL-1β 诱导的 NF-κB 激活,从而增加核内 NF-κB 的表达。这些结果表明,山竹醇能通过抑制 NF-κB 核移位和 IkBα 降解从而抑制 IL-1β 诱导的髓核细胞 NF-κB 活化。

综上,山竹醇可抑制 IL-1β 刺激下的髓核细胞炎症和细胞外基质降解,同时山竹醇可通过抑制 NF-κB 信号通路达到保护作用。因此,山竹醇对预防 IDD 有一定的作用,有望成为一种新的 IDD 治疗药物。

[参考文献]

[1] Wang SZ, Chang Q, Lu J, et al. Growth factors and platelet-rich plasma: promising biological strategies for early intervertebral disc degeneration [J]. Int Orthop, 2015, 39(5): 927 - 934. doi: 10.1007/s00264 - 014 - 2664 - 8.

[2] Todd NV. The surgical treatment of non-specific low back pain[J]. Bone Joint J, 2017, 99 - B(8): 1003 - 1005. doi: 10.1302/0301 - 620X.99B8. BJJ - 2017 - 0199.R1.

[3] Zhang F, Zhao X, Shen H, et al. Molecular mechanisms of cell death in intervertebral disc degeneration (Review)[J]. Int J Mol Med, 2016, 37(6): 1439 - 1448. doi: 10.3892/ijmm.2016.2573.

[4] Dowdell J, Erwin M, Choma T, et al. Intervertebral disk degeneration and repair [J]. Neurosurgery, 2017, 80(3S): S46 - S54. doi: 10.1093/neuros/nyw078.

[5] Navone SE, Marfia G, Giannoni A, et al. Inflammatory mediators and sig-

nalling pathways controlling intervertebral disc degeneration[J]. Histol Histopathol,2017,32(6):523 - 542. doi:10.14670/HH - 11 - 846.

[6] Zhao H,Yu X,Tang XS,et al. Relationship between inflammatory cytokines of IL-1beta and TNF-alpha and intervertebral disc degeneration [J]. Zhongguo Gu Shang,2017,30(9):866 - 871. doi:10.3969/j.issn.1003 - 0034.2017.09.017.

[7] Sun ZY,Liu YT,Liang H,et al. Interleukin-1beta exacerbates the catabolic effects of human nucleus pulposus cells through activation of the nuclear factor kappa B signaling pathway under hypoxic conditions[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2018,22(21):7129 - 7139. doi:10.26355/eurrev_201811_16244.

[8] Yang SD,Yang DL,Sun YP,et al. 17beta-estradiol protects against apoptosis induced by interleukin-1beta in rat nucleus pulposus cells by down-regulating MMP-3 and MMP-13 [J]. Apoptosis,2015,20(3):348 - 357. doi:10.1007/s10495 - 015 - 1086 - 4.

[9] Chen J,Liu GZ,Sun Q,et al. Protective effects of ginsenoside Rg3 on TNF-alpha-induced human nucleus pulposus cells through inhibiting NF-kappaB signaling pathway[J]. Life Sci,2019,216:1 - 9. doi:10.1016/j.lfs.2018.11.022.

[10] Jia Y,Pang C,Zhao K,et al. Garcinol suppresses IL-1beta-induced chondrocyte inflammation and osteoarthritis via inhibition of the NF-kappaB signaling pathway[J]. Inflammation,2019,42(5):1754 - 1766. doi:10.1007/s10753 - 019 - 01037 - 7.

[11] Wang YW,Zhang X,Chen CL,et al. Protective effects of garcinol against neuropathic pain:evidence from in vivo and in vitro studies [J]. Neurosci Lett,2017,647:85 - 90. doi:10.1016/j.neulet.2017.03.015.

[12] Tsai ML,Chiou YS,Chiou LY,et al. Garcinol suppresses inflammation-associated colon carcinogenesis in mice[J]. Mol Nutr Food Res,2014,58(9):1820 - 1829. doi:10.1002/mnfr.201400149.

[13] 贺琼玉,邵亚飞,姚卫磊,等. 饲粮添加山竹醇对氧化应激仔猪生长性能、抗氧化功能及肝脏脂质合成的影响[J]. 动物营养学报,2019,31(12):5834 - 5845. doi:10.3969/j.issn.1006 - 267x.2019.12.049.

[14] 邵亚飞,贺琼玉,姚卫磊,等. 山竹醇对生长育肥猪生长性能、肌肉抗氧化能力和肌纤维类型组成的影响[J]. 动物营养学报,2020,32(3):1151 - 1160. doi:10.3969/j.issn.1006 - 267x.2020.03.022.

[15] Chen D,Xia D,Pan Z,et al. Metformin protects against apoptosis and senescence in nucleus pulposus cells and ameliorates disc degeneration in vivo[J]. Cell Death Dis,2016,7(10):e2441. doi:10.1038/cddis.2016.334.

[16] Rider SM,Mizuno S,Kang JD. Molecular mechanisms of intervertebral disc degeneration[J]. Spine Surg Relat Res,2018,3(1):1 - 11. doi:10.22603/ssrr.2017 - 0095.

[17] Waxenbaum JA,Reddy V,Futterman B. Anatomy,Back,Intervertebral Discs[J]. Stat Pearls,2020.

[18] Takahashi M,Haro H,Wakabayashi Y,et al. The association of degeneration of the intervertebral disc with 5a/6a polymorphism in the promoter of the human matrix metalloproteinase-3 gene[J]. J Bone Joint Surg Br,2001,83(4):491 - 495. doi:10.1302/0301 - 620x.83b4.11617.

[19] Yan N,Yu S,Zhang H,et al. Lumbar disc degeneration is facilitated by MiR-100-mediated FGFR3 suppression[J]. Cell Physiol Biochem,2015,36(6):2229 - 2236. doi:10.1159/000430187.

[20] Huo JZ,Ji XH,Su ZY,et al. Association of ADAMTS4 and ADAMTS5 polymorphisms with musculoskeletal degenerative diseases:a systematic review and Meta-analysis[J]. Biosci Rep,2018,38(6):BSR20181619. doi:10.1042/BSR20181619.

[21] Le Maitre CL,Freemont AJ,Hoyland JA. The role of interleukin-1 in the pathogenesis of human intervertebral disc degeneration[J]. Arthritis Res Ther,2005,7(4):R732 - R745. doi:10.1186/ar1732.

[22] Yang W,Yu XH,Wang C,et al. Interleukin-1beta in intervertebral disk degeneration[J]. Clin Chim Acta,2015,450:262 - 272. doi:10.1016/j.cca.2015.08.029.

[23] Molinos M,Almeida CR,Caldeira J,et al. Inflammation in intervertebral disc degeneration and regeneration[J]. J R Soc Interface,2015,12(104):20141191. doi:10.1098/rsif.2014.1191.

[24] Johnson ZI,Schoepflin ZR,Choi H,et al. Disc in flames:roles of TNF-alpha and IL-1beta in intervertebral disc degeneration[J]. Eur Cell Mater,2015,30:104 - 116. doi:10.22203/ecm.v030a08.

[25] Phillips KL,Jordan-Mahy N,Nicklin MJ,et al. Interleukin-1 receptor antagonist deficient mice provide insights into pathogenesis of human intervertebral disc degeneration[J]. Ann Rheum Dis,2013,72(11):1860 - 1867. doi:10.1136/annrheumdis - 2012 - 202266.

[26] Kang R,Li H,Rickers K,et al. Intervertebral disc degenerative changes after intradiscal injection of TNF-alpha in a porcine model[J]. Eur Spine J,2015,24(9):2010 - 2016. doi:10.1007/s00586 - 015 - 3926 - x.

[27] 于立梅,冯卫华,白卫东. 贮藏温度对山竹果皮硬化效应及抑菌活性影响[J]. 现代食品科技,2012,28(9):1098 - 1101. doi:10.13982/j.mfst.1673 - 9078.2012.09.036.

[28] 孔敬波,马信龙,王 涛,等. Wnt/β-catenin 及 NF-κB 信号通路与椎间盘退变的研究进展[J]. 中国修复重建外科杂志,2013,27(12):1523 - 1528.

[29] Zheng Y,Lin Y,Chen Z,et al. Propionibacterium acnes induces intervertebral discs degeneration by increasing MMP-1 and inhibiting TIMP-1 expression via the NF-kappaB pathway[J]. Int J Clin Exp Pathol,2018,11(7):3445 - 3453.

[30] Tang P,Gu JM,Xie ZA,et al. Honokiol alleviates the degeneration of intervertebral disc via suppressing the activation of TXNIP-NLRP3 inflammasome signal pathway[J]. Free Radic Biol Med,2018,120:368 - 379. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2018.04.008.

[31] Wang J,Hu J,Chen X,et al. BRD4 inhibition regulates MAPK,NF-kappaB signals,and autophagy to suppress MMP-13 expression in diabetic intervertebral disc degeneration[J]. FASEB J,2019,33(10):11555 - 11566. doi:10.1096/fj.201900703R.

(编辑:龙小芬)