doi:10.11659/jjssx.11E023093

·骨关节专栏·

鹰嘴豆素A对骨关节炎的体外作用机制研究

何 鹏,李秀成,何争珍,周显臣 (三峡大学中医医院/宜昌市中医医院骨伤科,湖北 宜昌 443000)

[摘 要] **目的** 通过体外实验探讨鹰嘴豆素A(BCA)对骨关节炎的作用机制。**方法** 提取大鼠原代软骨细胞进行培养,随后将其分为对照组(不加诱导剂及干扰剂)、模型组[10 ng/mL白细胞介素-1β(IL-1β)诱导]和BCA组(10 ng/mL IL-1β诱导+0、3、6、12、24、48 μmol/L BCA干预)。采用四甲基偶氮唑蓝(MTT)法进行细胞活性评估,衰老β-半乳糖苷酶(SA-β-gal)染色观察细胞衰老情况,酶联免疫吸附(ELISA)法检测细胞内炎症因子和氧化应激指标,蛋白免疫印迹法检测相关蛋白水平,运用分子对接技术验证BCA与Nrf2之间的亲和力。**结果** MTT法筛选BCA浓度后,选择6、12、24 μmol/L BCA进行后续实验。与对照组相比,模型组软骨细胞活性及过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)活性明显减弱($P<0.05$),SA-β-gal阳性细胞数显著增加,肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-6(IL-6)、丙二醛(MDA)表达水平明显升高($P<0.05$),细胞内Ⅱ型胶原蛋白(COL2A1)、蛋白多糖(ACAN)表达水平明显降低($P<0.05$)。与模型组相比,BCA组上述情况均出现明显逆转($P<0.05$)。此外,BCA可以显著减弱核因子κB抑制因子α(IκB-α)的降解和NF-κBp65的核转位,并促进Nrf2在细胞核中的表达和人血红素氧化酶1(HO-1)在全细胞中的表达($P<0.05$)。分子对接研究结果则进一步证实BCA与Nrf2具有极高的亲和力。**结论** BCA可通过调控Nrf2/NF-κB信号通路体外抑制骨关节炎软骨细胞氧化应激及炎症反应,缓解关节损伤。

[关键词] 鹰嘴豆素A;核因子-E2相关因子2;NF-κB信号通路;氧化应激;炎症反应

[中图分类号] R684.3 [文献标志码] A [收稿日期] 2023-11-21

[基金项目] 2023年度宜昌市医疗卫生研究项目(A23-1-064)

[通信作者] 何 鹏,E-mail:495166595@qq.com

[24] Kimura S, Yamaguchi S, Ono Y, et al. Changes in the syndesmotic reduction after syndesmotic suture-button fixation for ankle malleolar fractures: 1-year longitudinal evaluations using computed tomography [J]. Foot Ankle Int, 2021, 42(10): 1270-1276. doi: 10.1177/10711007211008518.

[25] van den Bekerom MP, Hogervorst M, Bolhuis HW, et al. Operative aspects of the syndesmotic screw: review of current concepts [J]. Injury, 2008, 39(4): 491-498. doi: 10.1016/j.injury.2007.11.425.

[26] Vopat ML, Vopat BG, Lubberts B, et al. Current trends in the diagnosis and management of syndesmotic injury [J]. Curr Rev Musculoskelet Med, 2017, 10(1): 94-103. doi: 10.1007/s12178-017-9389-4.

[27] Dahmen J, Jaddi S, Hagemeijer NC, et al. Incidence of (Osteo) chondral lesions of the ankle in isolated syndesmotic injuries: a systematic review and meta-analysis[J]. Cartilage, 2022, 13(2): 19476035221102569. doi: 10.1177/19476035221102569.

[28] He JQ, Ma XL, Xin JY, et al. Pathoanatomy and injury mechanism of typical Maisonneuve fracture [J]. Orthop Surg, 2020, 12(6): 1644-1651. doi: 10.1111/os.12733.

[29] 薛 阳,赵永杰,邓明明,等. TightRope弹性固定联合下胫腓韧带功能性全修复治疗下胫腓联合损伤[J]. 中国修复重建外科杂志, 2023, 37(8): 964-969. doi: 10.7507/1002-1892.202305020.

[30] Kim GB, Park CH. Hybrid fixation for Danis-Weber type C fractures with syndesmosis injury [J]. Foot Ankle Int, 2021, 42(2): 137-144. doi: 10.1177/1071100720964799.

[31] Naqvi GA, Shafqat A, Awan N. Tightrope fixation of ankle syndesmosis injuries: clinical outcome, complications and technique modification [J]. Injury, 2012, 43(6): 838-842. doi: 10.1016/j.injury.2011.10.002.

[32] Bae KJ, Kang SB, Kim J, et al. Reduction and fixation of anterior inferior tibiofibular ligament avulsion fracture without syndesmotic screw fixation in rotational ankle fracture [J]. J Int Med Res, 2020, 48(4): 300060519882550. doi: 10.1177/0300060519882550.

[33] Marques Ribeiro H, Silva J, Teixeira R, et al. Clinical outcomes and trans-syndesmotic screw frequency after posterior malleolar fracture osteosynthesis [J]. Injury, 2021, 52(3): 633-637. doi: 10.1016/j.injury.2020.10.021.

[34] Takahashi K, Teramoto A, Murahashi Y, et al. Comparison of treatment methods for syndesmotic injuries with posterior tibiofibular ligament ruptures: a cadaveric biomechanical study [J]. Orthop J Sports Med, 2022, 10(9): 23259671221122811. doi: 10.1177/23259671221122811.

[35] Lin X, Tu C, Lin W, et al. Comparison the treatment of anterior inferior tibiofibular ligament anatomical repair and syndesmosis screw fixation for syndesmotic injuries in ankle fracture [J]. BMC Surg, 2023, 23(1): 80. doi: 10.1186/s12893-023-01982-z.

[36] 周金华,张文玺,刘国旗,等. 韧带修复与拉力钉固定下胫腓联合损伤的比较[J]. 中国矫形外科杂志, 2022, 30(18): 1716-1719. doi: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.18.19.

[37] Whitlock KG, LaRose M, Barber H, et al. Deltoid ligament repair versus trans-syndesmotic fixation for bimalleolar equivalent ankle fractures [J]. Injury, 2022, 53(6): 2292-2296. doi: 10.1016/j.injury.2022.03.063.

[38] Guo W, Lin W, Chen W, et al. Comparison of deltoid ligament repair and non-repair in acute ankle fracture: a meta-analysis of comparative studies[J]. PLoS One, 2021, 16(11): e0258785. doi: 10.1371/journal.pone.0258785.

[39] Chun DI, Cho JH, Min TH, et al. Diagnostic accuracy of radiologic methods for ankle syndesmosis injury: a systematic review and meta-analysis[J]. J Clin Med, 2019, 8(7): 968. doi: 10.3390/jcm8070968.

(编辑:龙小芬)

Study on mechanism of action of biochanin A on osteoarthritis in vitro

HE Peng, LI Xiu-cheng, HE Zheng-zhen, ZHOU Xian-chen (Department of Orthopedics, China Three Gorges University Traditional Chinese Medicine Hospital/Yichang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yichang Hubei 443000, China)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of action of biochanin A (BCA) on osteoarthritis through in vitro experiments. **Methods** Primary rat chondrocytes were extracted and cultured, and then divided into the control group (without inducer or interferant), the model group [10 ng/mL interleukin-1β (IL-1β) induction], and the BCA group (10 ng/mL IL-1β induction+0, 3, 6, 12, 24, 48 μmol/L BCA intervention). Cell activity was detected by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) method. Senescence-associated β-galactosidase (SA-β-gal) staining was used to observe cell senescence. Intracellular inflammatory factors and oxidative stress indexes were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the levels of related proteins were detected by Western blot, and the affinity between BCA and Nrf2 was verified by molecular docking technology. **Results** After screening the concentration of BCA with MTT, 6, 12 and 24 μmol/L BCA were selected for subsequent experiments. Compared with the control group, the chondrocyte activity and the activities of catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) in the model group were significantly decreased (P<0.05). The number of SA-β-gal positive cells and expression levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-6 (IL-6), and malondialdehyde (MDA) increased significantly (P<0.05). The expression levels of type II collagen (COL2A1) and aggrecan (ACAN) were significantly decreased (P<0.05). Compared with the model group, the above conditions were significantly reversed in the BCA group (P<0.05). In addition, BCA could significantly reduce the degradation of inhibitor kappa B alpha (IκB-α) and nuclear translocation of NF-κBp65, and promote the expression of Nrf2 in the nucleus and the expression of human heme oxygenase-1 (HO-1) in whole cells (P<0.05). The results of molecular docking further confirmed that BCA had the highest affinity with Nrf2. **Conclusion** BCA can inhibit oxidative stress and inflammation of osteoarthritis chondrocytes by regulating Nrf2/NF-κB signaling pathway in vitro, and alleviate joint injury.

Keywords: biochanin A; nuclear factor erythroid derived 2-like 2; NF-κB signaling pathway; oxidative stress; inflammatory response

骨关节炎是一种不可逆转的慢性退行性疾病，在老年人中表现出很高的发病率和致残率[1]。其明确病因尚不清楚，目前的研究多认为未解决的慢性炎症以及氧化应激是关节软骨破坏和骨关节炎产生的关键原因[2-3]。为了防止骨关节炎诱导的软骨降解，通过保留软骨细胞的抗氧化功能来恢复氧化还原平衡是一种有前景的策略。鹰嘴豆素A（biochanin A，BCA）是从黄芪、红三叶草、大豆和许多其他植物中提取的一种异黄酮类植物雌激素，具有抗炎、抗氧化、抗真菌、抗肿瘤、神经保护和保肝等药理作用[4-6]。已有研究发现，BCA可通过抑制核因子κB（nuclear factor κB，NF-κB）的激活，在骨质疏松症中发挥抗炎作用[7]。此外，BCA还可通过核因子-E2相关因子2（nuclear factor erythroid derived 2-like 2，Nrf2）/system xc-/谷胱甘肽过氧化物酶4信号通路清除自由基，防止脂质过氧化，调节骨关节炎进展过程中的铁稳态[8]。基于上述研究，我们推测BCA具有显著的抗骨关节炎作用，但是BCA对过氧化关节炎软骨细胞的保护作用和机制尚不清楚。此外，已有研究证实，在氧化应激和炎症过程中，涉及Nrf2和NF-κB的转录途径之间存在广泛的串扰机制[9]。因此，本研究通过体外实验探讨BCA在软骨细胞氧化应激和骨关节炎进展中的作用，尤其是对Nrf2/NF-κB信号通路的影响，从而为BCA的临床应用提供新的证据支持。

1 材料与方法

1.1 主要材料

BCA标准品（纯度：HPLC≥98%，规格：20 mg）购自北京普非生物科技有限公司。重组人白细胞介素-1β（interleukin-1β，IL-1β）购自上海碧云天生物技术有限公司；四甲基偶氮唑蓝（methyl thiazolyl tetrazolium，MTT）比色法试剂盒购自深圳子科生物科技有限公司；细胞衰老β-半乳糖苷酶（senescence-associated β-galactosidase，SA-β-gal）染色试剂购自北京百奥莱博科技有限公司；过氧化氢酶（catalase，CAT）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）、丙二醛（malondialdehyde，MDA）、肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）和白细胞介素-6（interleukin-6，IL-6）酶联免疫吸附（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒购自上海中乔新舟生物科技有限公司；核蛋白提取试剂盒购自上海联迈生物工程有限公司；一抗Ⅱ型胶原蛋白（collagen type II alpha 1，COL2A1）、蛋白多糖（aggrecan，ACAN）、核因子κB抑制因子α（inhibitor kappa B alpha，IκB-α）、人血红素氧化酶1（heme oxygenase-1，HO-1）、NF-κBp65以及Nrf2兔抗单克隆抗体，兔抗GAPDH抗体、核纤层蛋白B（Lamin B）抗体，辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase，HRP）标记的山羊抗鼠免疫球蛋白G（immunoglobulin G，IgG）二抗均购自英国Abcam公司。

1.2 方法

1.2.1 原代SD大鼠软骨细胞分离及培养 从浙江中医药大学动物实验研究中心购买SPF级8~10周龄SD大鼠5只[体质量(230±20)g],动物生产许可证号:SCXK(浙)2021-0003。将动物饲养于三峡大学实验动物中心,动物使用许可证号:SYXK(鄂)20100010。适应性饲养7 d后,在无菌条件下处死健康SD大鼠,收集膝关节和股骨头软骨。PBS洗涤后,将软骨切成小块放入含乙二胺四乙酸胰蛋白酶(0.25%)的消化液中消化2 h,置于含有10%胎牛血清和1%抗生素的DMEM培养基中,在5%CO_2、37 ℃的潮湿环境中培养,每2 d更换1次培养基,当细胞密度为80%~90%时进行胰蛋白酶消化,并按照1∶3的比例传代培养,取第二代软骨细胞用于以下实验。本研究经三峡大学中医医院伦理委员会批准[伦审(2023)第08号]。

1.2.2 细胞分组 实验开始前配制BCA溶液,取2.84 mg的BCA,使用1 mL二甲基亚砜溶液溶解,得到终浓度为2×10^3 μmol/L的母液,用0.22 μm微孔过滤,-20 ℃保存。将细胞随机分为对照组、模型组和BCA组。对照组不加任何诱导剂及干扰剂,正常生长;模型组加入10 ng/mL IL-1β进行培养;BCA组用10 ng/mL IL-1β诱导,并给予不同浓度(0、3、6、12、24、48 μmol/L)BCA进行药物干预。

1.2.3 细胞活性检测 各组细胞以1×10^4/mL密度接种到96孔板内,分别将细胞培养0、12、24、48 h,弃去细胞上清液,加入20 μL MTT,于37 ℃、5%CO_2细胞培养箱中避光孵育2 h,使用酶标仪检测450 nm波长处吸光度($A_{450\,nm}$)值。

1.2.4 SA-β-gal染色 各组细胞以1×10^4/mL密度接种到6孔板内,培养24 h后弃细胞培养液,PBS洗涤1次,加入1 mL SA-β-gal染色固定液室温固定15 min。弃去固定液后用PBS洗涤细胞,每孔加入1 mL SA-β-gal染色工作溶液,在37 ℃恒温培养箱中孵育过夜。

1.2.5 ELISA检测 各组细胞培养48 h后取上清,采用ELISA试剂盒检测TNF-α、IL-6、MDA、SOD、CAT水平。操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.2.6 蛋白免疫印迹法 用RIPA裂解液裂解细胞,按需求分别提取总蛋白[检测COL2A1、ACAN]、细胞质蛋白[检测IκB-α、HO-1]和细胞核蛋白[检测NF-κBp65、Nrf2]。沸水浴5 min使蛋白变性,分别取等量蛋白于10%SDS-PADE凝胶中进行电泳分离,转移到PVDF膜上。5%脱脂牛奶封闭后洗膜,分别加入一抗COL2A1(1∶1 000)、ACAN(1∶1 000)、IκB-α(1∶1 000)、HO-1(1∶2 000)、NF-κBp65(1∶1 000)、Nrf2(1∶500)、GAPDH(1∶200)、Lamin B(1∶100),4 ℃孵育过夜。TBST洗涤后加入二抗(1∶1 000),结合1 h后显影,凝胶成像系统分析目的蛋白,以GAPDH或Lamin B为内参,Image J软件对蛋白条带进行半定量分析。

1.2.7 分子对接与综合评分 分子对接使用Discovery Studio 2.5软件进行。首先,对蛋白质靶标的X射线晶体结构进行预处理,向模型中添加氢气,并使用CHARMM(https://www.charmm.org/)优化其方向力场能量最小化,使用Discovery Studio工具筛选蛋白活性位点,基于CDOCKER能量评分对分子对接结果进行评价。

1.3 统计学分析

利用SPSS 24.0软件对数据进行统计学分析,符合正态分布且方差齐性的数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间差异比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用*LSD-t*检验。$P<0.05$为差异具有统计学意义。

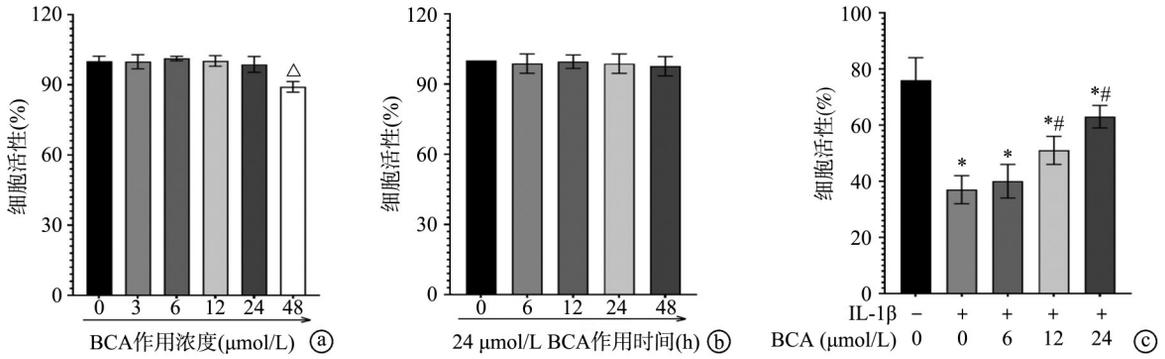
2 结果

2.1 BCA对骨关节炎软骨细胞活性的影响

当BCA浓度为0、3、6、12、24 μmol/L,作用时间为24 h时,其对软骨细胞活性无显著影响($P>0.05$);当BCA浓度为48 μmol/L、作用时间为24 h时,对软骨细胞活性有显著影响($P<0.05$),见图1a。当BCA浓度为24 μmol/L、作用时间不超过48 h时,其对软骨细胞活性无显著影响($P>0.05$),见图1b。因3 μmol/L浓度改变较小,与6 μmol/L相比,引起的变化不明显,最终选择6、12、24 μmol/L BCA进行后续实验。与对照组相比,模型组软骨细胞活性受到显著抑制($P<0.05$);与模型组比较,使用12、24 μmol/L BCA干预后,软骨细胞活性明显增强($P<0.05$),见图1c。

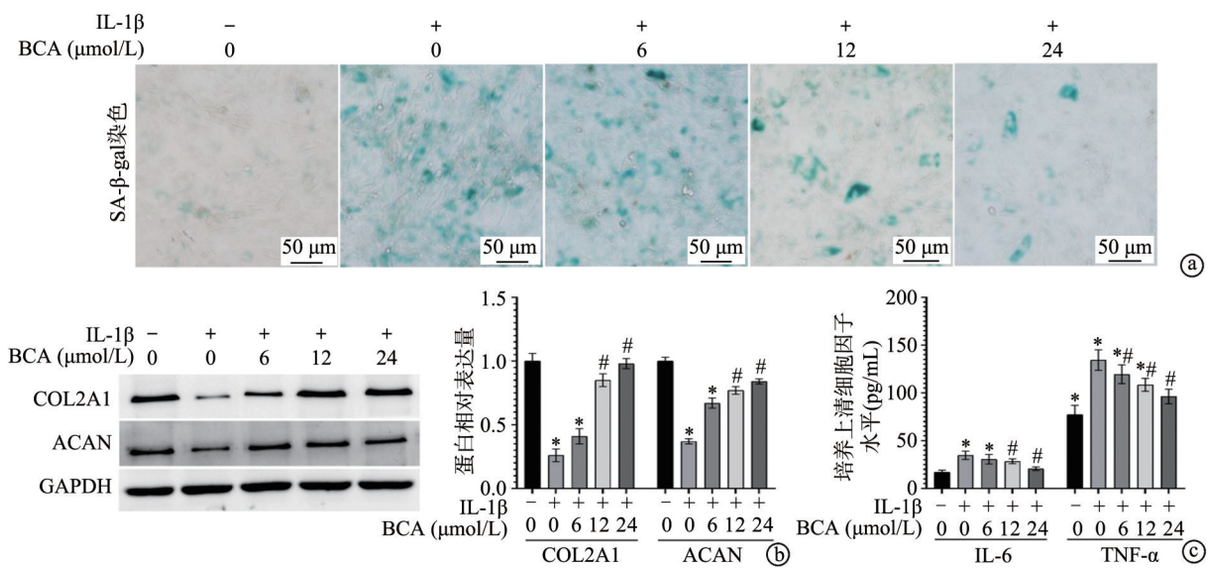
2.2 BCA对骨关节炎软骨细胞衰老和细胞外基质(extracellular matrix,ECM)合成的影响

软骨细胞SA-β-gal染色显示,与对照组相比,模型组和6 μmol/L BCA干预后的SA-β-gal阳性细胞数量显著增加,而12、24 μmol/L BCA干预后SA-β-gal阳性细胞数量分别为(27±3)个和(14±3)个,较模型组[(59±14)]个有所减少,说明12、24 μmol/L BCA可以部分逆转IL-1β诱导的软骨细胞衰老,见图2a。Western blot和ELISA实验结果显示,与对照组相比,模型组COL2A1和ACAN蛋白表达量明显降低($P<0.05$),而细胞培养上清中IL-6和TNF-α水平显著升高($P<0.05$);与模型组相比,12、24 μmol/L BCA干预后COL2A1和ACAN蛋白表达量升高($P<0.05$),而IL-6和TNF-α水平降低($P<0.05$),见图2b、c。



a:不同浓度(0、3、6、12、24、48 μmol/L)BCA作用24 h时对软骨细胞活性的影响;b:24 μmol/L BCA作用不超过48 h时对软骨细胞活性的影响;c:各组软骨细胞活性比较 △:与0、3、6、12、24 μmol/L BCA浓度相比,$P<0.05$;*:与对照组相比,$P<0.05$;#:与模型组相比,$P<0.05$

图1 MTT法测定BCA对软骨细胞活性的影响



a:软骨细胞SA-β-gal染色(蓝色:阳性细胞);b:Western blot检测软骨细胞中COL2A1和ACAN蛋白表达;c:ELISA法检测培养上清中IL-6、TNF-α水平 *:与对照组相比,$P<0.05$,#:与模型组相比,$P<0.05$

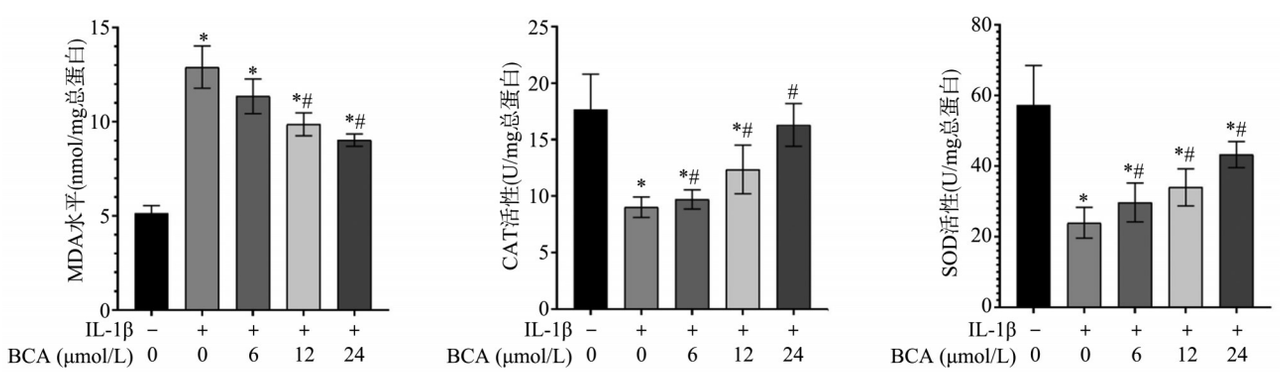
图2 BCA对软骨细胞衰老和ECM相关因子表达的影响

2.3 BCA对骨关节炎软骨细胞氧化应激水平的影响

与对照组比较,模型组骨关节炎软骨细胞培养上清中MDA水平升高($P<0.05$),CAT、SOD活性减弱($P<0.05$);而与模型组比较,12、24 μmol/L BCA干预后MDA水平明显降低($P<0.05$),SOD、CAT活性显著增强($P<0.05$),见图3。

2.4 BCA对骨关节炎软骨细胞Nrf2/NF-κB信号通路的影响

Western blot结果显示,与对照组相比,模型组IκB-α表达水平显著降低($P<0.05$),NF-κBp65表达水平显著升高($P<0.05$);与模型组相比,6、12、24 μmol/L BCA干预后IκB-α表达水平显著升高($P<0.05$),



*:与对照组相比,$P<0.05$,#:与模型组相比,$P<0.05$

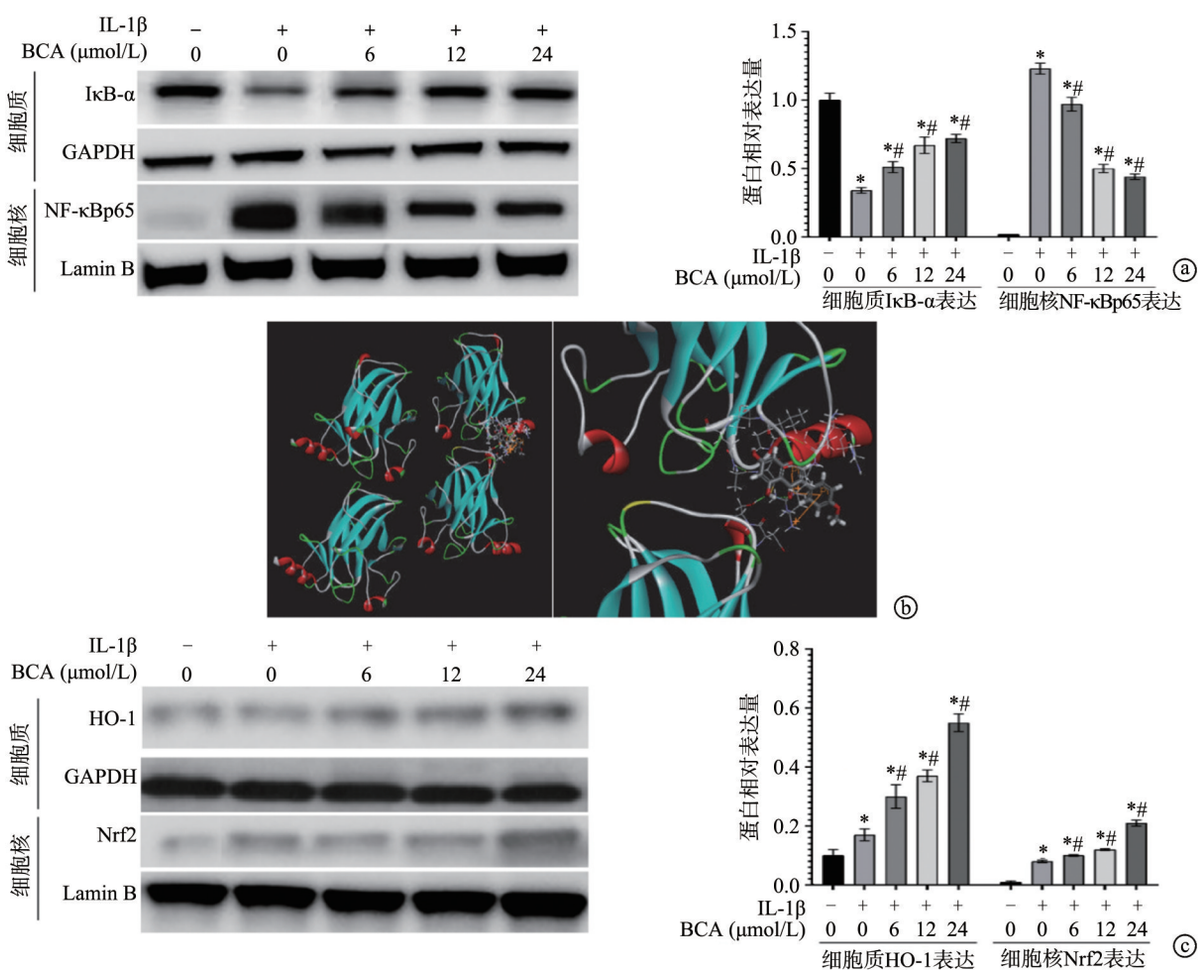
图3 BCA对软骨细胞氧化应激因子表达的影响

NF-κBp65表达水平显著降低($P<0.05$),见图4a。分子对接筛选结果显示,针对Nrf2的BCA获得了最高的CDOCKER能量分数(13 kcal/mol),这意味着BCA与Nrf2具有极高的亲和力,见图4b。Western blot结果显示,与对照组相比,模型组HO-1、Nrf2表达水平均显著升高($P<0.05$);与模型组相比,6、12、24 μmol/L BCA干预后的HO-1、Nrf2表达水平均进一步升高($P<0.05$),见图4c。

3　讨论

骨关节炎可导致严重的不适、活动受限和残疾,是一种广泛影响关节且无法治愈的退行性疾病[10-11],临床上尚无针对该病的有效治疗方案。作为一种治疗性药物,BCA显示出抑制各种组织炎症的潜力。本研究结果表明,BCA可通过介导Nrf2抑制NF-κB通路来减缓骨关节炎的进展。这一发现可为未来骨关节炎的治疗提供参考。

关节软骨是由软骨细胞及ECM组成的结缔组织,基质通过包裹软骨细胞作为软骨关节机械支撑的润滑剂,软骨细胞凋亡在退行性变和关节软骨退化中起着重要作用[4-7]。BCA来源于天然植物,具有广泛的药理作用和较高的治疗开发潜力。本研究将分离的软骨细胞暴露于一系列有效且无害的BCA浓度下,以探讨其对骨关节炎的作用。结果表明,BCA能够抑制IL-1β刺激的软骨细胞中ECM的过度分解代谢和合成代谢不足。ECM由胶原蛋白、蛋白聚糖、纤维蛋白、水和矿物质组成,占软骨干重的90%,ECM降解和破坏造成的异常负荷环境会导致细胞功能障碍和炎症[12]。COL2A1是关节软骨的主要结构蛋白,IL-1β、TNF-α和IL-6是骨关节炎发病中最重要的炎症介质,是大量不同信号通路的激活剂,可激活其他细胞因子和病理过程[13-14]。本研究中,BCA浓度为12、24 μmol/L时,可以部分逆转软骨细胞衰老,并促进COL2A1和ACAN蛋白表达,降低IL-6和TNF-α水平,表明由IL-1β引发的ECM抑制分解现象可被BCA缓解,抑制炎症反应,有效缓解软骨细胞损伤。另外,氧化应激反应的水平可



a:NF-κBp65蛋白在细胞核中的表达和IκB-α蛋白在细胞质中的表达;b:BCA与Nrf2结合的示意图;c:Nrf2蛋白在细胞核中的表达和HO-1蛋白在细胞质中的表达　*:与对照组相比,$P<0.05$,#:与模型组相比,$P<0.05$

图4　BCA对IL-1β诱导的软骨细胞Nrf2/NF-κB通路的影响

反映骨关节细胞损伤程度[15-16]。在本研究中,BCA干预可促进IL-1β诱导的软骨细胞模型中SOD和CAT释放,抑制MDA表达,提示BCA对骨关节炎软骨细胞模型免疫反应具有调控作用,可降低细胞内氧化应激水平,延缓骨关节炎软骨退变。

多项研究表明,骨关节炎的进展过程涉及Nrf2/NF-κB通路的调节,该通路可调控软骨细胞的凋亡及炎症反应,也在氧化还原系统中发挥重要作用[1,17-18]。Nrf2是介导抗炎症和抗凋亡的重要转录因子,正常生理条件下,Nrf2与Keap1结合形成聚合物,受到刺激后,Keap1的半胱氨酸残基被修饰,导致Nrf2在细胞核中释放和积累,与抗氧化反应元件结合,启动各种抗炎和抗凋亡基因的转录和表达,最后转录HO-1和谷胱甘肽S-转移酶,启动活性氧自由基清除系统以保护细胞免受氧化应激诱导的损伤并维持氧化还原稳态[17,19]。此外,Nrf2相关信号对其他转录因子(如NF-κB)具有负调控作用,也揭示了Nrf2信号可以影响代谢,与其抗氧化应激和减少炎症的作用密切相关[17]。IL-1β刺激可启动IκB激酶磷酸化,并通过传递NF-κB信号进一步调节下游基因表达,诱导NF-κBp65易位,从而导致一系列炎症反应[1,20]。本研究首先证实了BCA可以显著减弱IκB-α的降解和NF-κBp65的核转位,然后通过分子对接筛选,发现BCA与Nrf2具有极高的亲和力,提示BCA可能对Nrf2产生影响。本研究结果显示,IL-1β诱导后,Nrf2蛋白从细胞质进入细胞核;而BCA干预后,Nrf2在细胞核中的表达和HO-1在细胞质中的表达升高,这进一步证明了BCA与Nrf2/NF-κB信号通路可能密切相关。

综上,本体外实验证实了BCA在IL-1β诱导的软骨细胞中具有抗炎、抗氧化作用,可降低软骨细胞炎症因子水平,抑制ECM降解及氧化应激反应,从而缓解软骨细胞损伤,其作用机制可能与介导Nrf2抑制NF-κB通路有关。本研究的不足之处在于仅展示了BCA对Nrf2/NF-κB信号通路部分关键因子的影响,未通过体内实验及临床试验进行验证,今后仍需大量实验研究证实BCA在骨关节炎中的潜在作用。

[参考文献]

[1] Yao Q, Wu X, Tao C, et al. Osteoarthritis: pathogenic signaling pathways and therapeutic targets[J]. Signal Transduct Target Ther, 2023,8(1):56-86. doi:10.1038/s41392-023-01330-w.

[2] Van Spil WE, Kubassova O, Boesen M, et al. Osteoarthritis phenotypes and novel therapeutic targets[J]. Biochem Pharmacol, 2019, 165:41-48. doi:10.1016/j.bcp.2019.02.037.

[3] 郑梅梅,江自鲜,郑俭彬,等. 骨关节炎病理变化过程的研究进展[J]. 云南中医药大学学报,2023,46(3):106-112. doi:10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2023.03.019.

[4] 李彦军,郑 楠,王加启,等. 鹰嘴豆素A的生物学功能研究进展[J]. 动物营养学报,2022,34(4):2177-2185. doi:10.3969/j.issn.1006-267x.2022.04.014.

[5] Sarfraz A, Javeed M, Shah MA, et al. Biochanin A: a novel bioactive multifunctional compound from nature[J]. Sci Total Environ, 2020, 722:137907. doi:10.1016/j.biopha.2022.113915.

[6] Yan J, Qiu P, Zhang X, et al. Biochanin A from Chinese medicine: an isoflavone with diverse pharmacological properties[J]. Am J Chin Med, 2021,49(7):1623-1643. doi:10.1142/S0192415X21500750.

[7] Liao S, Feng W, Liu Y, et al. Inhibitory effects of biochanin A on titanium particle-induced osteoclast activation and inflammatory bone resorption via NF-κB and MAPK pathways[J]. J Cel Physiol, 2021, 236(2):1432-1444. doi:10.1002/jcp.29948.

[8] He Q, Yang J, Pan Z, et al. Biochanin A protects against iron overload associated knee osteoarthritis via regulating iron levels and NRF2/System xc-/GPX4 axis[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 157: 113915. doi: 10.1016/j.biopha.2022.113915.

[9] Li W, Tao C, Mao M, et al. The Nrf2/HMGB1/NF-kappaB axis modulates chondrocyte apoptosis and extracellular matrix degradation in osteoarthritis[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2023, 55(5): 818-830. doi:10.3724/abbs.2023078.

[10] 王甲河,邹淑娟,谢 静,等. NLRP3炎性小体与骨及关节疾病发生的研究进展[J]. 四川大学学报(医学版),2023,54(3):679-684. doi:10.12182/20230560105.

[11] Coryell PR, Diekman BO, Loeser RF. Mechanisms and therapeutic implications of cellular senescence in osteoarthritis[J]. Nat Rev Rheumatol,2021,17(1):47-57. doi:10.1038/s41584-020-00533-7.

[12] Peng Z, Sun H, Bunpetch V, et al. The regulation of cartilage extracellular matrix homeostasis in joint cartilage degeneration and regeneration[J]. Biomaterials, 2021, 268: 120555. doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.120555.

[13] Rieppo L, Janssen L, Rahunen K, et al. Histochemical quantification of collagen content in articular cartilage[J]. PLoS One, 2019, 14(11):e0224839. doi:10.1371/journal.pone.0224839.

[14] Molnar V, Matišić V, Kodvanj I, et al. Cytokines and chemokines involved in osteoarthritis pathogenesis[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(17):9208-9230. doi:10.3390/ijms22179208.

[15] Ansari MY, Ahmad N, Haqqi TM. Oxidative stress and inflammation in osteoarthritis pathogenesis: role of polyphenols[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 129:110452. doi:10.1016/j.biopha.2020.110452.

[16] 徐 翀,申利民,苑文杰. 当归多糖通过Wnt/β-catenin信号通路抑制骨关节炎软骨细胞氧化应激损伤与炎症反应[J]. 陕西中医, 2022, 43(6): 700-703. doi: 10.3969/j.issn.1000-7369.2022.06.005.

[17] Wang L, He C. Nrf2-mediated anti-inflammatory polarization of macrophages as therapeutic targets for osteoarthritis[J]. Front Immunol, 2022,13:967193. doi:10.3389/fimmu.2022.967193.

[18] 兰伟斌,阙武堂,谢建鸿,等. 大黄素通过抑制NF-κB信号通路改善骨关节炎的软骨降解分析[J]. 中国免疫学杂志,2023,39(2): 308-312. doi:10.3969/j.issn.1000-484X.2023.02.016.

[19] Chen Z, Zhong H, Wei J, et al. Inhibition of Nrf2/HO-1 signaling leads to increased activation of the NLRP3 inflammasome in osteoarthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2019, 21(1): 300-312. doi: 10.1186/s13075-019-2085-6.

[20] Choi MC, Jo J, Park J, et al. NF-κB signaling pathways in osteoarthritic cartilage destruction[J]. Cells, 2019, 8(7): 734-754. doi: 10.3390/cells8070734.

(编辑:魏 源)