

刺五加苷 B 对 IL-1 β 诱导的骨关节炎软骨细胞凋亡的影响

胡蔚¹, 毛强^{2*} [1. 中国科学院大学宁波华美医院, 浙江 宁波 315010; 2. 浙江中医药大学附属第一医院(浙江省中医院), 杭州 310006]

摘要: 目的 探究刺五加苷 B(acanthopanax B, ACA-B)对 IL-1 β 诱导的骨关节炎软骨细胞凋亡的影响。方法 取 SD 大鼠软骨细胞随机分成 5 组, 分别为对照组(PBS)、模型组(IL-1 β)、ACA-B 低剂量组(IL-1 β +1 $\times$ 10⁻⁸ mol·L⁻¹ ACA-B)、ACA-B 中剂量组(IL-1 β +1 $\times$ 10⁻⁷ mol·L⁻¹ ACA-B)、ACA-B 高剂量组(IL-1 β +1 $\times$ 10⁻⁶ mol·L⁻¹ ACA-B); CCK8 法检测不同浓度的 ACA-B 对软骨细胞增殖的影响, 以及对 IL-1 β 处理的软骨细胞活性的影响; 采用 Hoechst 33342 染色观察软骨细胞核凋亡情况; 采用 qRT-PCR 法检测凋亡相关基因的 mRNA 表达水平; 采用 Western blotting 法检测凋亡相关蛋白的表达情况。结果 当 ACA-B 浓度为 1 $\times$ 10⁻⁶ mol·L⁻¹ 或 1 $\times$ 10⁻⁷ mol·L⁻¹ 时, 能够显著促进软骨细胞增殖。与模型组相比, ACA-B 各组细胞活力明显增加; Hoechst 33342 染色结果显示, ACA-B 能够明显改善 IL-1 β 诱导的软骨细胞核碎裂, 萎缩现象, 抑制细胞凋亡; 与模型组比较, ACA-B 加药组细胞中 Bax、Caspase-3、Caspase-8、Caspase-9 的 mRNA 及蛋白水平显著降低, Bcl-2 的 mRNA 及蛋白水平显著升高。结论 刺五加苷 B 能够有效抑制 IL-1 β 诱导的骨关节炎软骨细胞凋亡。

关键词: 刺五加苷 B; IL-1 β ; 骨关节炎; 凋亡

中图分类号: R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2020)21-2570-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.21.002

引用本文: 胡蔚, 毛强. 刺五加苷 B 对 IL-1 β 诱导的骨关节炎软骨细胞凋亡的影响[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(21): 2570-2575.

Effect of Acanthopanax B on IL-1 β -induced Apoptosis of Osteoarthritic Chondrocytes

HU Wei¹, MAO Qiang^{2*} [1. Hwa Mei Hospital, University of Chinese Academy of Science, Ningbo 315010, China; 2. The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University (Zhejiang Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine), Hangzhou 310006, China]

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of acanthopanax B(ACA-B) on IL-1 β -induced apoptosis of osteoarthritic chondrocytes. **METHODS** SD rat chondrocytes were randomly divided into 5 groups: control group (PBS), model group (IL-1 β), ACA-B low-dose group (IL-1 β +1 $\times$ 10⁻⁸ mol·L⁻¹ ACA-B), ACA-B medium dose group (IL-1 β +1 $\times$ 10⁻⁷ mol·L⁻¹ ACA-B), and ACA-B high-dose group (IL-1 β +1 $\times$ 10⁻⁶ mol·L⁻¹ ACA-B); CCK8 assay was used to determine the effects of different concentrations of ACA-B on chondrocytes proliferation and IL-1 β -treated chondrocytes activity; Hoechst 33342 staining was used to observe the apoptosis of cartilage nucleus; mRNA expression levels of apoptosis-related genes were detected by qRT-PCR; The expression of apoptosis-related proteins was detected by Western blotting. **RESULTS** ACA-B could significantly promote chondrocyte proliferation when the concentration was 1 $\times$ 10⁻⁶ mol·L⁻¹ or 1 $\times$ 10⁻⁷ mol·L⁻¹. Compared with model group, the cell activity of ACA-B groups were significantly increased. The results of Hoechst 33342 staining showed that ACA-B could significantly improve the nuclear fragmentation and atrophy of cartilage induced by IL-1 β , and inhibit apoptosis. Compared with the model group, the mRNA and protein levels of Bax, Caspase-3, Caspase-8 and Caspase-9 in the ACA-B intervention group were significantly decreased, while the mRNA and protein levels of Bcl-2 were significantly increased. **CONCLUSION** ACA-B can effectively inhibit IL-1 β -induced apoptosis of osteoarthritis chondrocytes.

KEYWORDS: acanthopanax B; IL-1 β ; osteoarthritis; apoptosis

骨性关节炎(osteoarthritis, OA)是一类多发于老年人的致残性关节疾病, 其主要病变特点为关节软骨退行性变、滑膜炎和继发性骨赘形成^[1-2]。流行病学分析和研究发现, 软骨细胞的凋亡及 IL-1 β 等炎症因子的过度表达是导致关节软骨的退行性病变和 OA 发生的主要病理过程^[3]。目前医学上对 OA 主要以药物治疗为主, 包含抗炎药及解热镇痛药物等, 在一定程度上可改善患者关节活动度、使其临床症状得到改善, 但对 OA 退变进程无

法减缓或逆转, 且长期使用不良反应显著^[4-5]。

刺五加为五加科植物刺五加 [*Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms] 的干燥根和根茎或茎, 其化学成分主要包括苷类、黄酮类、木脂素类、多糖类等^[6]。现代药理学研究表明, 刺五加具有保护中枢神经系统和心脑血管系统的作用, 还有抗肿瘤、抗衰老、抗炎、提高机体免疫力以及明显的抗疲劳作用^[7]。有研究报道, 刺五加注射液灌洗治疗膝骨关节炎疗效确切, 能减轻患者膝关节的肿

基金项目: 国家自然科学基金项目(81603639)

作者简介: 胡蔚, 女, 主管中药师 Tel: (0574)83870838 E-mail: qiuyuyan222@163.com *通信作者: 毛强, 男, 博士, 主治医师 Tel: (0571)86620265 E-mail: zyydxmq@126.com

· 2570 · Chin J Mod Appl Pharm, 2020 November, Vol.37 No.21

中国现代应用药学 2020 年 11 月第 37 卷第 21 期

胀、疼痛等症状^[8],也能够减缓甚至阻断实验性兔膝关节 OA 的病变进展^[9]。刺五加苷 B(acanthopanx B, ACA-B),是刺五加的主要苷类成分之一。近年来,有研究发现 ACA-B 在抗运动型疲劳及对抗细胞损伤方面具有一定的成效^[10-11],然而,其治疗炎症相关疾病方面却鲜有报道。本研究利用 IL-1 β 诱导软骨细胞,模拟 OA 炎症内环境,探讨 ACA-B 是否可以抑制 IL-1 β 诱导的软骨细胞凋亡。

1 材料

1.1 动物

12 只 SPF 级新生 24 h SD 大鼠,♂,购买于上海斯莱克实验动物有限责任公司,动物生产许可证号为 SCXK(沪)2013-0018;饲养于浙江中医药大学实验动物研究中心屏障系统内,动物使用许可证号为 SYXK(浙)2013-0184,饲养条件室温(23±2)°C,相对湿度 60%~70%。本研究所涉及的动物操作均符合浙江中医药大学动物中心管理规定和相关伦理学要求。

1.2 药物与试剂

ACA-B(中国药品生物制品检定,批号:20180803);DMEM 培养基、胎牛血清(美国 Gibco 公司,批号:C1294600BT,10270-104);Trizol 试剂、II型胶原酶(美国 Sigma 公司,批号:B3046, B2622);CCK-8 试剂盒(中国碧云天公司,批号:D7609N);Bcl-2、Bax、Caspase-3、Caspase-8、Caspase-9(美国 CST 公司,批号:3498T,14796S, 9662S, 9502T, 9522S);IL-1 β (美国 PeproTech 公司,批号:00045979);反转录试剂盒 Prime Script RT Reagent Kit 和 SYBR PrimeScript miRNA RT-PCR Kit(日本 Takara 公司,批号:CK3403A, CD2653A)。

1.3 仪器

SW-CJ-1FD 超净工作台(苏州净化设备有限公司);X715 XK-8 型转移脱色摇床(江苏新康医疗器械有限公司);PowerPac Basic 电泳仪(美国 BIO-RAD 公司);3300 Mini 化学发光成像系统(中国 CLINX 公司);移液枪(多规格)(德国 Eppendorf 公司);ERD-4C 荧光倒置显微镜(北京世纪科信科学仪器有限公司);Infinite M200 PRO 型多功能酶标仪(奥地利 TECAN 公司);7500 荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)。

2 方法

2.1 软骨细胞的分离与培养

取 12 只 SPF 级 SD 大鼠,用 10%水合氯醛麻

醉处死,无菌条件下刮取股骨髁及胫骨平台的关节软骨,用无菌磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 次,剪碎后加入 0.25%胰蛋白酶置于培养箱消化 1 h,再加 0.2%II型胶原酶继续消化 4 h,收集上清液并以 1 000 r·min⁻¹离心 8 min,弃掉上清液,加入完全培养基,重悬,接种于细胞培养皿内,置于 37 °C、5% CO₂ 恒温箱内进行培养,培养 3 d 后更换培养基,而后每 2 天换液 1 次,当细胞长至 95%以上时,用 0.25%胰蛋白酶消化,按 1:4 的比例传代,传至第 3 代细胞进行实验。

2.2 分组及处理

2.2.1 不同浓度 ACA-B 对软骨细胞增殖的影响 取对数生长期的第 3 代软骨细胞,分成 6 组,分别为 PBS 对照组,ACA-B 1×10⁻⁸, 1×10⁻⁷, 1×10⁻⁶, 1×10⁻⁵, 1×10⁻⁴ mol·L⁻¹组。在 37 °C 恒温箱内培养 8 h,吸掉上清液,每孔加入 100 μ L 含 CCK8 试剂的完全培养基,继续培养 4 h,用酶标仪在 450 nm 波长下检测吸光度。

2.2.2 不同浓度 ACA-B 对 IL-1 β 处理的软骨细胞活性的影响 将培养至第 3 代的软骨细胞分为 5 组,分别为对照组(PBS)、模型组(IL-1 β)、ACA-B 低剂量组(IL-1 β +1×10⁻⁸ mol·L⁻¹ ACA-B)、ACA-B 中剂量组(IL-1 β +1×10⁻⁷ mol·L⁻¹ ACA-B)、ACA-B 高剂量组(IL-1 β +1×10⁻⁶ mol·L⁻¹ ACA-B)。IL-1 β 浓度为 10 mg·L⁻¹,IL-1 β 与 ACA-B 共培养 24 h,采用 CCK8 试剂检测不同浓度 ACA-B 对 IL-1 β 处理的软骨细胞活性的影响。

2.2.3 Hoechst 33342 染色观察软骨细胞核凋亡情况 将细胞铺于 6 孔板内培养,待软骨细胞长至 60%,按“2.2.2”分组后处理,IL-1 β 与 ACA-B 共培养 24 h,每组设置 3 个复孔,继续培养 24 h 后用 PBS 洗 2 遍,然后用 4%的多聚甲醛固定细胞 10 min,弃去多聚甲醛后用 PBS 洗涤 3 次,加入 0.5 μ g·mL⁻¹的 DAPI 染液孵育 10 min(避光),PBS 洗涤 3 次后,用荧光显微镜拍照观察细胞核情况,独立实验重复 3 次。

2.2.4 qRT-PCR 检测软骨细胞中相关凋亡基因的表达 使用 Trizol 试剂从各组细胞株中提取总 RNA。按照反转录试剂盒 Prime Script RT Reagent Kit 和 SYBR PrimeScript miRNA RT-PCR Ki 试剂盒说明书要求进行逆转录和 qRT-PCR,以 GAPDH 为内参,结果用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 方法计算。各基因引物序列见表 1。

表1 各基因引物序列

Tab. 1 Primer sequence of each gene

基因名称	上游引物	下游引物
<i>Bcl-2</i>	5'-AGTGGATCGGTCTGAATGACAGGA-3'	5'-AGAAGTTGTCTAGGCTGGTTTGA-3'
<i>Bax</i>	5'-TGGTTGCCCTTTTCTACTTTG-3'	5'-GAAGTAGGAAAGGAGGCCATC-3'
<i>Caspase-3</i>	5'-TGC GGCGTTACACGACCTT-3'	5'-CAAAGCCAGTGGCACTCATTCTC-3'
<i>Caspase-8</i>	5'-CTGACAAGCCTGAATAAA-3'	5'-TAATGACAATCTCGGACTC-3'
<i>Caspase-9</i>	5'-CCAAATCCTCCAGAACCA-3'	5'-GAACTAACAGGCAAGCAGC-3'

2.2.5 Western blotting 法检测凋亡相关蛋白的表达情况 提取转染后的各组细胞蛋白, Western blotting 检测各蛋白表达水平。细胞裂解液裂解并提取蛋白, BCA 法检测蛋白浓度, 经 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后转印, 5%脱脂奶粉封闭, 封闭后加入相应一抗 4 °C 摇床过夜, 第 2 天加入相应二抗, 室温孵育 2 h 后 TBST 洗膜 3 次。ECL 浸泡后用化学发光荧光成像系统对图像进行扫描和分析。

2.3 统计学处理

实验结果用 SPSS 22.0 统计软件进行分析, 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用两独立样本 *t* 检验统计学方法, 当 $P < 0.05$ 时具有统计学意义。

3 结果

3.1 CCK-8 法检测不同浓度 ACA-B 对软骨细胞增殖的影响

1×10^{-7} , 1×10^{-6} mol·L⁻¹ 的 ACA-B 处理组细胞增殖水平明显高于 PBS 对照组, 具有显著性差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 且 ACA-B 浓度为 1×10^{-6} mol·L⁻¹ 时, 软骨细胞增殖作用最强, 而当浓度提高到 $\geq 1 \times 10^{-5}$ mol·L⁻¹ 时, 其促增殖作用降低。结果见图 1。

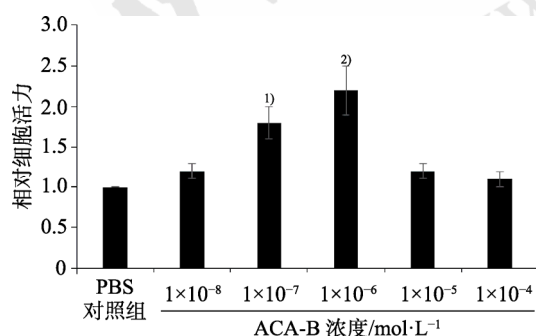


图1 不同浓度 ACA-B 对软骨细胞增殖的影响
与 PBS 对照组相比, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

Fig. 1 Effects of ACA-B at different concentrations on chondrocyte proliferation
Compared with the PBS control group, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$.

3.2 不同浓度 ACA-B 对 IL-1 β 诱导的软骨细胞活性的影响

低、中、高浓度的 ACA-B (1×10^{-8} , 1×10^{-7} ,

1×10^{-6} mol·L⁻¹) 对 IL-1 β 诱导的软骨细胞活性的影响见图 2。与对照组相比, 模型组细胞活力明显降低 ($P < 0.01$); 与模型组细胞相比, ACA-B 加药组均能显著提高 IL-1 β 诱导的软骨细胞活性 ($P < 0.01$)。

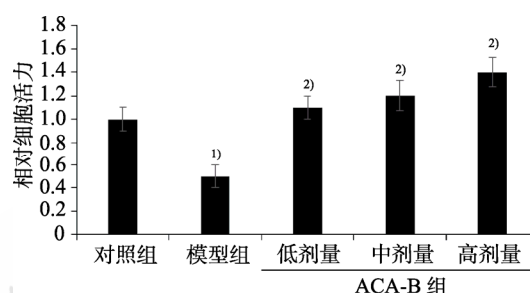


图2 不同浓度的 ACA-B 对 IL-1 β 诱导的软骨细胞活性的影响

与对照组相比, ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组相比, ²⁾ $P < 0.01$ 。

Fig. 2 Effects of different concentrations of ACA-B on IL-1 β -induced chondrocyte activity
Compared with the control group, ¹⁾ $P < 0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P < 0.01$.

3.3 Hoechst 33342 染色观察软骨细胞核凋亡情况

对照组软骨细胞核完整, 色泽均匀。模型组软骨细胞细胞核体积缩小, 细胞核碎裂、萎缩、染色深。而用不同浓度的 ACA-B 处理 IL-1 β 诱导的软骨细胞可见其核破坏较轻, 细胞核也较完整, 各 ACA-B 加药组可明显减轻 IL-1 β 诱导的软骨细胞核的破坏, 表明 ACA-B 具有抑制 IL-1 β 诱导的软骨细胞凋亡的作用。结果见图 3。

3.4 qRT-PCR 检测各组软骨细胞中凋亡相关基因的表达

用 IL-1 β 处理后的模型组软骨细胞, 与对照组相比, 胞内的凋亡基因 *Bax*、*Caspase-3*、*Caspase-8*、*Caspase-9* 含量显著升高, 抗凋亡基因 *Bcl-2* 表达显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 而经 ACA-B 处理后的软骨细胞, 与模型组相比, *Bax*、*Caspase-3*、*Caspase-8*、*Caspase-9* 基因表达水平显著减少, 抗凋亡基因 *Bcl-2* 的含量显著增高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 间接反映 ACA-B 具有抑制细胞凋亡, 保护软骨细胞功能的作用。结果见表 2。

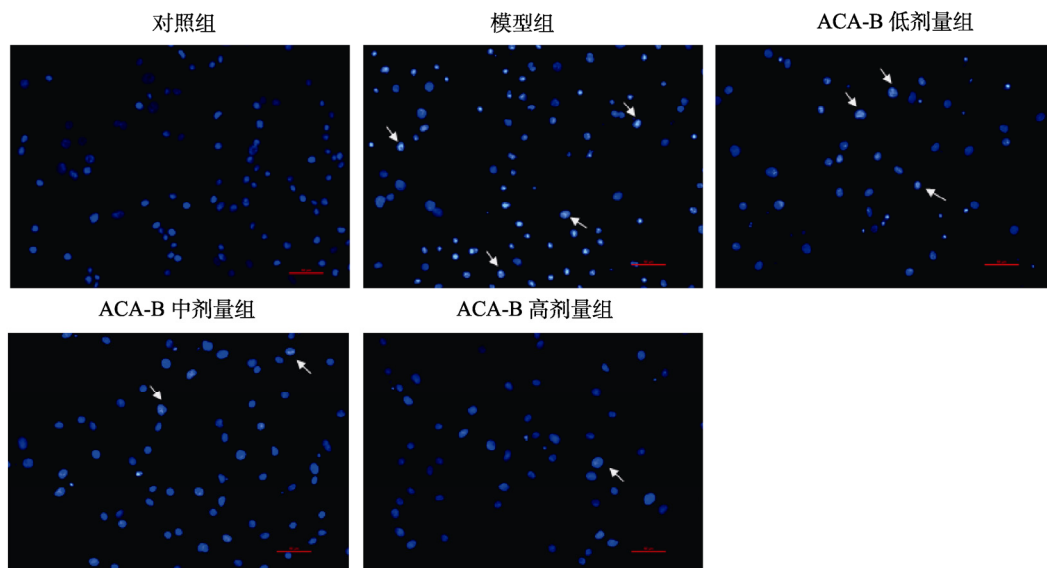


图3 Hoechst 33342 染色检测软骨细胞核凋亡情况

Fig. 3 Hoechst 33342 staining assay was used to detect the apoptosis of cartilage nucleus

表2 IL-1 β 诱导的软骨细胞中凋亡相关基因的相对表达量($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Relative expression of apoptosis-related genes in IL-1 β -induced chondrocytes ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>Bcl-2</i>	<i>Bax</i>	<i>Caspase-3</i>	<i>Caspase-8</i>	<i>Caspase-9</i>
对照组	1.00 $\pm$ 0.01	1.00 $\pm$ 0.02	1.00 $\pm$ 0.01	1.00 $\pm$ 0.01	1.00 $\pm$ 0.01
模型组	0.40 $\pm$ 0.01 ²⁾	2.10 $\pm$ 0.03 ¹⁾	3.30 $\pm$ 0.08 ²⁾	3.40 $\pm$ 0.03 ²⁾	3.00 $\pm$ 0.02 ²⁾
ACA-B 低剂量组	0.60 $\pm$ 0.08 ³⁾	1.30 $\pm$ 0.03 ³⁾	2.10 $\pm$ 0.05 ³⁾	2.30 $\pm$ 0.05 ³⁾	2.10 $\pm$ 0.02 ³⁾
ACA-B 中剂量组	0.90 $\pm$ 0.01 ³⁾	1.20 $\pm$ 0.02 ⁴⁾	1.70 $\pm$ 0.03 ³⁾	1.60 $\pm$ 0.04 ⁴⁾	1.60 $\pm$ 0.03 ⁴⁾
ACA-B 高剂量组	0.60 $\pm$ 0.05 ³⁾	1.40 $\pm$ 0.01 ³⁾	1.70 $\pm$ 0.03 ³⁾	2.00 $\pm$ 0.06 ³⁾	1.90 $\pm$ 0.06 ³⁾

注: 与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; 与模型组相比, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with the control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$; compared with the model group, ³⁾ $P<0.05$, ⁴⁾ $P<0.01$.

3.5 Western blotting 法检测凋亡相关蛋白的表达情况

Western blotting 结果显示, 与对照组相比, 经 IL-1 β 处理的模型组软骨细胞凋亡蛋白 Bax、Caspase-3、Caspase-8、Caspase-9 表达显著增加, 抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达显著降低($P<0.01$), 见图 4。

而经不同浓度的 ACA-B 干预后, 与模型组相比, 软骨细胞中凋亡蛋白 Bax、Caspase-3、Caspase-8、Caspase-9 的表达明显减弱, 抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达增强($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。可见 ACA-B 是通过抑制 IL-1 β 诱导的大鼠软骨细胞凋亡途径, 从而保护软骨细胞不受破坏。

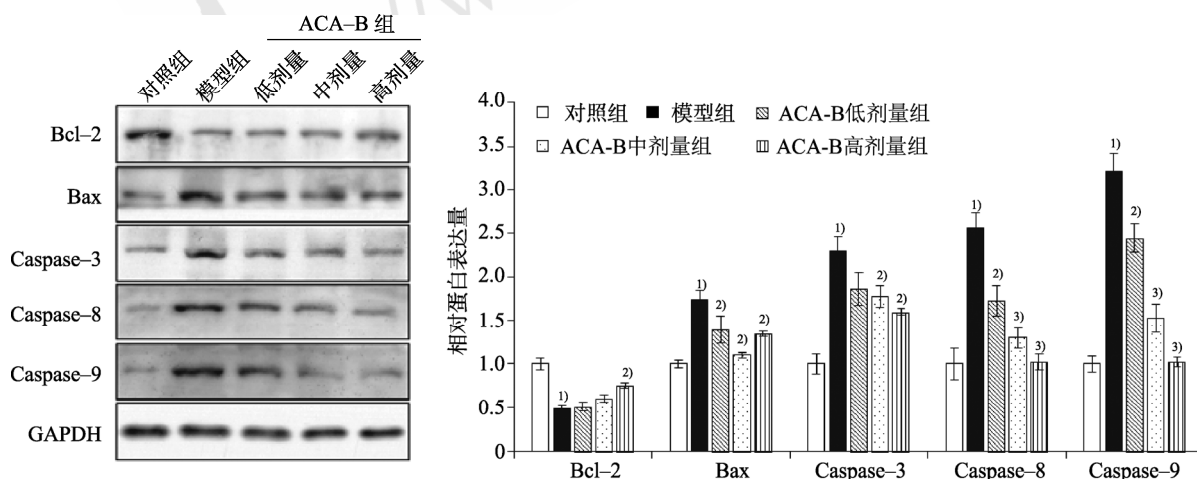


图4 软骨细胞中凋亡相关蛋白表达情况

与对照组相比, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组相比, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 4 Expression of apoptosis-related proteins in chondrocytes

Compared with the control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$.

4 讨论

OA 是一种以关节软骨的退行性变为特征表现的慢性致残性关节疾病^[12-13], 一般认为 OA 是生物力学和生物化学因素共同作用导致的软骨细胞、细胞外基质、滑膜、软骨下骨的代谢紊乱所致^[14]。正常关节软骨主要是由 99% 的软骨基质及 1% 的软骨细胞组成, 在 OA 患者中, 通过病理染色可以发现关节软骨表面空陷窝增加, 软骨细胞数量明显减少, 细胞核大量凋亡, 且软骨纤维化频率与软骨细胞减少的变化一致^[15-16]。研究发现, OA 患者关节软骨细胞凋亡率明显高于正常关节^[17], 表明软骨细胞的凋亡在 OA 关节软骨降解中起十分关键的作用。因此, 寻找抑制软骨细胞凋亡的效应分子作为 OA 的治疗靶点, 可能会为 OA 的治疗提供新的治疗途径。

IL-1 β 作为 OA 病理进展过程的关键炎症细胞因子, 不仅能刺激软骨细胞合成和分泌 MMPs, 抑制软骨 II 型胶原及蛋白聚糖的表达, 而且还能介导其他炎症因子诸如前列腺素 E2(PGE2)、NO、IL-6 等的表达, 产生强大的促炎作用, 最终导致关节退化和关节功能障碍, 被认为是 OA 病理进展过程中关键的机制之一, 因此, IL-1 β 诱导细胞凋亡常被用于 OA 体外模型的建立^[18-19]。软骨细胞凋亡在 OA 发生发展过程中发挥至关重要的作用。OA 软骨细胞的表型改变、数量减少以及软骨厚度变薄等因素均与软骨细胞凋亡存在密切联系^[20], 在 OA 的发生发展过程中存在软骨细胞凋亡, 而软骨细胞凋亡可进一步加剧关节退变, 因此, 抑制 OA 软骨细胞凋亡已成为 OA 非手术治疗药物开发的关键所在。

本研究利用 IL-1 β 诱导软骨细胞, 模拟 OA 炎症内环境, 研究 ACA-B 对 IL-1 β 诱导的 OA 软骨细胞凋亡的影响。实验结果表明, 不同浓度的 ACA-B 对软骨细胞具有一定的促增殖作用, 其中 $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下的 ACA-B 对软骨细胞的促增殖作用最强, 并且与 ACA-B 对 IL-1 β 诱导的软骨细胞凋亡的保护作用相一致, 说明 ACA-B 具有抑制软骨细胞凋亡的作用。

为了进一步阐明 ACA-B 抑制凋亡的分子机制, 本研究从分子和蛋白的角度探究凋亡相关因子的含量变化。半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶 (Caspase) 活化及起效是细胞凋亡的中枢环节, 它可以裂解凋亡抑制物, 破坏细胞结构和调节多种蛋白功能; Bcl-2、Bax、Caspase-3、Caspase-8、

Caspase-9 均是细胞凋亡的重要调控因子^[21]。Caspase 作为软骨细胞凋亡的重要执行者, Caspase-9 活化时, 能够激活 Caspase-3, 降解多种蛋白底物, 引发 Caspase 级联反应导致软骨细胞凋亡。Bcl-2 具有抑制多种因素引起软骨细胞凋亡的作用^[22], Bax 与 Bcl-2 相互拮抗, 当 Bcl-2 高表达时能形成 Bcl-2 同源二聚体起到抑制软骨细胞凋亡的作用; Bax 高表达时, 促进异源二聚体形成, 抑制 Bcl-2 抗凋亡功能, 同时也能够促进形成 Bax 同源二聚体, 引发 Caspase 介导的软骨细胞凋亡^[23]。本研究中 Hoechst 33342 染色结果证明 ACA-B 可明显减轻 IL-1 β 诱导的软骨细胞核的破坏。qRT-PCR 和 Western blotting 结果表明 ACA-B 能够显著抑制 Bax、Caspase-3、Caspase-8、Caspase-9 的 mRNA 及蛋白表达水平, 上调 Bcl-2 的 mRNA 及蛋白表达水平。这些结果进一步证明 ACA-B 能够抑制 IL-1 β 诱导的软骨细胞凋亡。

综上所述, ACA-B 能够通过下调凋亡相关因子 Bax、Caspase-3、Caspase-8、Caspase-9 的表达, 上调抗凋亡因子 Bcl-2 的表达, 进而抑制 IL-1 β 诱导的 OA 软骨细胞凋亡。这为开发安全有效的治疗 OA 药物奠定了理论基础。

REFERENCES

- [1] 马钢, 任明姬. 骨性关节炎软骨细胞凋亡的研究[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2012, 21(2): 196-200.
- [2] YANG Y F, HUANG J. Research progress in epidemiological of osteoarthritis [J]. Med Recap(医学综述), 2017, 23(3): 497-501, 506.
- [3] WANG D, QIAO J, ZHAO X, et al. Thymoquinone inhibits IL-1 β -induced inflammation in human osteoarthritis chondrocytes by suppressing NF- κ B and MAPKs signaling pathway [J]. Inflammation, 2015, 38(6): 2235-2241.
- [4] KOROSTYNSKI M, MALEK N, PIECHOTA M, et al. Cell-type-specific gene expression patterns in the knee cartilage in an osteoarthritis rat model [J]. Funct Integr Genomics, 2018, 18(1): 79-87.
- [5] YUAN W, BIAN Y Y, ZHU H J, et al. Curcumin inhibits sodium nitroprusside-induced apoptosis of rat chondrocytes via mitochondria-dependent pathway [J]. Chin J Gen Pract(中华全科医学), 2019, 17(4): 528-532.
- [6] TU Z W, ZHOU W W, SHAN Q, et al. Advances in studies on chemical constituents of *Acanthopanax senticosus* and their pharmacological effects [J]. Drug Eval Res(药物评价研究), 2011, 34(3): 213-216.
- [7] 汪琢, 姜守刚, 祖元刚, 等. 刺五加中紫丁香苷的提取分离及抗肿瘤作用研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(3): 752-753.
- [8] ZHANG W K, LIN J M, MA X H, et al. Effect of Ciwujia Injection lavage in the treatment of knee osteoarthritis [J]. China Mod Med(中国当代医药), 2018, 25(36): 108-110.
- [9] LIANG J H. Pathology observation of *Acanthopanax*

- senticosus* on knee osteoarthritis of rabbit [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med(辽宁中医药大学学报), 2010, 12(11): 232-234.
- [10] WU L Q, YE Q, QI L H. Effects of eleutheroside B on aerobic exercise-induced fatigue recovery [J]. Northwest Pharm J(西北药学杂志), 2013, 28(1): 50-53.
- [11] DONG Y, LIU S M, AN L F, et al. The effect of eleutheroside B on ERK1/2 of MPP+-induced PC12 cells [J]. J Mol Diagn Ther(分子诊断与治疗杂志), 2011, 3(3): 155-158.
- [12] CHEN J, GU Y T, XIE J J, et al. Gastrodin reduces IL-1 β -induced apoptosis, inflammation, and matrix catabolism in osteoarthritis chondrocytes and attenuates rat cartilage degeneration *in vivo* [J]. Biomed Pharmacother, 2018(97): 642-651.
- [13] GE Q, WANG H, XU X, et al. PDK1 promotes apoptosis of chondrocytes via modulating MAPK pathway in osteoarthritis [J]. Tiss Cell, 2017, 49(6): 719-725.
- [14] LI A Q, LIU Y J, FENG W, et al. Effects of icariin on phenotype and metabolism in IL-1 β -induced inflammatory chondrocytes [J]. Shanghai J Tradit Chin Med(上海中医药杂志), 2018, 52(2): 99-103.
- [15] CHELESCHI S, FIORAVANTI A, DE PALMA A, et al. Methylsulfonylmethane and mobilee prevent negative effect of IL-1 β in human chondrocyte cultures via NF- κ B signaling pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2018(65): 129-139.
- [16] PARK J, NEWMAN D, MCCAFFREY R, et al. The effect of chair *Yoga* on biopsychosocial changes in English- and Spanish-speaking community-dwelling older adults with lower-extremity osteoarthritis [J]. J Gerontol Soc Work, 2016, 59(7/8): 604-626.
- [17] HUANG Z, ZHOU M, WANG Q, et al. Mechanical and hypoxia stress can cause chondrocytes apoptosis through over-activation of endoplasmic Reticulum stress [J]. Arch Oral Biol, 2017(84): 125-132.
- [18] ZHAN X T, LAN Q M, WANG Z T, et al. Effect of matrine on IL-1 β induced *in vitro* mice osteoarthritis [J]. J Snake(蛇志), 2019, 31(1): 26-28.
- [19] LUO S, HUO Y X, LIU Y, et al. The effects of phillyrin on IL- β -induced human articular chondrocyte apoptosis and extracellular matrix degradation [J]. Immunol J(免疫学杂志), 2019, 35(8): 645-652, 658.
- [20] ZHANG Y C, ZHAO P, MU X Q, et al. Effect of SOX2 gene on apoptosis of chondrocytes in patients with osteoarthritis [J]. Chin J Osteoporos(中国骨质疏松杂志), 2019, 25(12): 1773-1777.
- [21] 林燕云, 游纯秋, 蒋擎, 等. 独活寄生汤抑制白细胞介素-1 β 诱导的软骨细胞凋亡的作用机制[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(7): 1702-1705.
- [22] JIANG L, WANG W, HE Q, et al. Oleic acid induces apoptosis and autophagy in the treatment of Tongue Squamous cell carcinomas [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 11277.
- [23] RAO Z, WANG S, WANG J. Peroxiredoxin 4 inhibits IL-1 β -induced chondrocyte apoptosis via PI3K/AKT signaling [J]. Biomed Pharmacother, 2017(90): 414-420.

收稿日期: 2019-10-12

(本文责编: 曹粤锋)