

• 论 著 •

艾拉莫德通过 TLR4/NF-κB 通路抑制骨关节炎软骨细胞模型凋亡及炎症反应*

邓 丽,文振华[△],田 锋,姚芳玲

株洲市中心医院风湿免疫科,湖南株洲 412000

摘 要:**目的** 研究艾拉莫德对骨关节炎(OA)软骨细胞模型凋亡及炎症反应的调控作用及机制。**方法** 培养软骨细胞株 ATDC5,采用 10 ng/mL 白细胞介素(IL)-1β 刺激的方法建立 OA 软骨细胞模型,给予不同浓度(0.6、1.2、1.8 mg/L)艾拉莫德处理,转染 pcDNA 质粒或 pcDNA-Toll 样受体 4(TLR4)质粒。检测细胞增殖活力(以 A₄₉₀ 表示)、凋亡率,裂解型 caspase-3(Cleaved caspase-3)、TLR4、核因子-κB(NF-κB) p-p65 表达水平,肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、IL-6、IL-8 水平。**结果** 模型组 A₄₉₀ 低于对照组,凋亡率、Cleaved caspase-3、TLR4、NF-κB p-p65、TNF-α、IL-6、IL-8 水平均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);不同浓度艾拉莫德组 A₄₉₀ 高于模型组,凋亡率、Cleaved caspase-3、TLR4、NF-κB p-p65、TNF-α、IL-6、IL-8 水平均低于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$)且上述调控作用呈浓度依赖性;在转染质粒的条件下,pcDNA-TLR4+1.8 mg/L 艾拉莫德组 A₄₉₀ 低于 pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组,凋亡率、Cleaved caspase-3、TLR4、NF-κB p-p65、TNF-α、IL-6、IL-8 水平均高于 pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 艾拉莫德通过抑制 TLR4/NF-κB 通路改善 OA 软骨细胞模型的凋亡及炎症反应。

关键词:骨关节炎; 艾拉莫德; 软骨细胞; 凋亡; 炎症反应; Toll 样受体 4/核因子-κB 通路

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.03.012 **中图法分类号:**R684.3

文章编号:1673-4130(2023)03-0316-06 **文献标志码:**A

Regulatory effect and mechanism of iguratimod on apoptosis and inflammatory response of osteoarthritis chondrocyte model*

DENG Li ,WEN Zhenhua[△],TIAN Feng ,YAO Fangling

Department of Rheumatology and Immunology,Zhuzhou Central Hospital ,
Zhuzhou,Hunan 412000,China

Abstract: Objective To study the regulatory effect and mechanism of iguratimod on apoptosis and inflammatory response of osteoarthritis (OA) chondrocyte model. **Methods** Chondrocyte line ATDC5 was cultured and stimulated with 10 ng/mL interleukin(IL)-1β for the establishment of OA model,treated with different concentrations (0.6,1.2,1.8 mg/L) of iguratimod,and transfected with pcDNA plasmid or pcDNA toll like receptor 4 (TLR4) plasmid. Proliferation activity (A₄₉₀),apoptosis rate,the expression level of cleaved caspase-3,TLR4 and nuclear factor -κB(NF-κB) p-p65,the contents of tumor necrosis factor-α(TNF-α),IL-6 and IL-8 were detected. **Results** The level of A₄₉₀ in the model group was lower than that in the control group,and the apoptosis rate,the expression level of cleaved caspase-3,TLR4 and NF-κB p-p65,the contents of TNF-α,IL-6,IL-8 were higher than those in the control group ($P<0.05$). The level of A₄₉₀ in different concentrations of iguratimod group was higher than that in the model group,and the apoptosis rate,the expression level of cleaved caspase-3,TLR4 and NF-κB p-p65,the contents of TNF-α,IL-6,IL-8 were lower than those in the model group ($P<0.05$). Under the condition of plasmid transfection,the level of A₄₉₀ in pcDNA-TLR4+1.8 mg/L iguratimod was lower than that in pcDNA+1.8 mg/L iguratimod group,and the apoptosis rate,the expression level of cleaved caspase-3,TLR4 and NF-κB p-p65,the contents of TNF-α,IL-6,IL-8 were highgr than those in pcDNA+1.8 mg/L iguratimod group($P<0.05$). **Conclusion** Iguratimod improves apoptosis and inflammatory response of OA chondrocyte model by inhibiting TLR4/NF-κB pathway.

Key words:osteoarthritis; iguratimod; chondrocytes; apoptosis; inflammatory response; toll like receptor 4/nuclear factor -κB pathway

* 基金项目:株洲市 2020 年度社会化出资项目(202104-10)。
作者简介:邓丽,女,副主任医师,主要从事系统性红斑狼疮、关节炎的相关研究。 [△] 通信作者,E-mail:151728544@qq.com。

骨关节炎(OA)是一类以关节软骨退行性改变以及继发性骨质增生、骨赘形成为特征的慢性骨关节疾病,主要的临床症状是关节疼痛和活动受限,严重者会发展为关节畸形。目前,OA 主要的保守治疗方法是使用非甾体类药物进行抗炎和镇痛,尚缺乏逆转关节软骨损害的特异性手段^[1-2]。艾拉莫德是一种新型的抗风湿小分子药物,具有抑制炎症、调节免疫的生物学功能,临床上用于类风湿关节炎的治疗能够有效抑制关节滑膜中炎症反应及细胞凋亡的激活^[3]。在 OA 的发病过程中,关节软骨细胞炎症反应及细胞凋亡的异常激活是造成软骨退行性改变重要的生物学因素^[4],国内一项基础研究报道艾拉莫德对白细胞介素(IL)-1 β 诱导的关节软骨细胞基质水解具有改善作用^[5],但该药物是否直接改善 OA 发病过程中关节软骨细胞的炎症反应及细胞凋亡尚不清楚。因此,本研究将以 IL-1 β 刺激关节软骨细胞的方式建立 OA 细胞模型,具体观察艾拉莫德对 OA 细胞模型凋亡及炎症反应的调控作用及分子机制,旨在为发现 OA 治疗的新药物提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株 小鼠软骨细胞株 ATDC5 购自美国 ATCC 公司。

1.2 仪器与试剂 细胞培养箱购自英国 Herocell 公司,多功能酶标仪购自美国 ABI 公司,显微镜为日本奥林巴斯公司产品,凝胶电泳仪及成像仪均为上海天能公司产品。达尔伯克改良伊格尔培养基(DMEM)及胎牛血清均购自美国 Gibco 公司,艾拉莫德片购自海南先声药业有限公司,CCK8 细胞增殖检测试剂盒购自美国 MCE 公司,IL-1 β 购自美国 Sigma 公司,pcDNA 质粒、pcDNA-TLR4 质粒购自上海生工公司,TUNEL 细胞凋亡试剂盒购自上海碧云天公司,细胞因子的酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒购自上海西唐公司,兔抗小鼠裂解型 caspase-3(Cleaved caspase-3)、Toll 样受体 4(TLR4)、核因子- κ B(NF- κ B)p-p65、 β -actin 特异性一抗及山羊抗兔辣根过氧化物酶二抗购自美国 Abcam 公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 ATDC5 细胞在含有 10%胎牛血清的培养基中贴壁培养,每 2 d 更换 1 次培养基,当细胞密度生长至 80%~90%时进行胰蛋白酶消化并按照 1:3 的比例传代继续培养。

1.3.2 细胞分组 传代的 ATDC5 细胞接种在培养板内进行分组,对照组用不含药物的培养基处理,模型组用含有 10 ng/mL IL-1 β 的培养基处理,不同浓度艾拉莫德组用含有 10 ng/mL IL-1 β 及不同浓度(0.6、1.2、1.8 mg/L)艾拉莫德处理;pcDNA 对照组转染 pcDNA 质粒,pcDNA 模型组在含有 10 ng/mL IL-1 β 的培养基中转染 pcDNA 质粒,pcDNA + 1.8

mg/L 艾拉莫德组在含有 10 ng/mL IL-1 β 及 1.8 mg/L 艾拉莫德的培养基中转染 pcDNA 质粒,pcDNA-TLR4 + 1.8 mg/L 艾拉莫德组在含有 10 ng/mL IL-1 β 及 1.8 mg/L 艾拉莫德的培养基中转染 pcDNA-TLR4 质粒。转染均采用脂质体法。每组做 4 个复孔,均连续给药或转染 48 h。

1.3.3 CCK8 法检测细胞增殖活力 收集细胞,采用 CCK8 法进行细胞增殖的检测,每孔加入 10 μ L 试剂盒检测液,继续培养 2 h 后在酶标仪上检测 A_{490} ,并以 A_{490} 表示细胞增殖活力。

1.3.4 TUNEL 法检测细胞凋亡 收集细胞,用 4%多聚甲醛固定后进行 TUNEL 法检测,先加入 TUNEL 染液进行染色,漂洗后加入 DAPI 染液进行染色,最后用抗荧光猝灭封片液封片后在显微镜下随机观察 5 个高倍视野,对 TUNEL 阳性细胞和 DAPI 阳性细胞进行计数,计算细胞凋亡率 = TUNEL 阳性细胞数/DAPI 阳性细胞数 $\times 100\%$ 。

1.3.5 ELISA 检测细胞因子水平 收集细胞培养基,采用 ELISA 试剂盒检测肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-6、IL-8 的水平。操作严格按照试剂盒说明书进行。

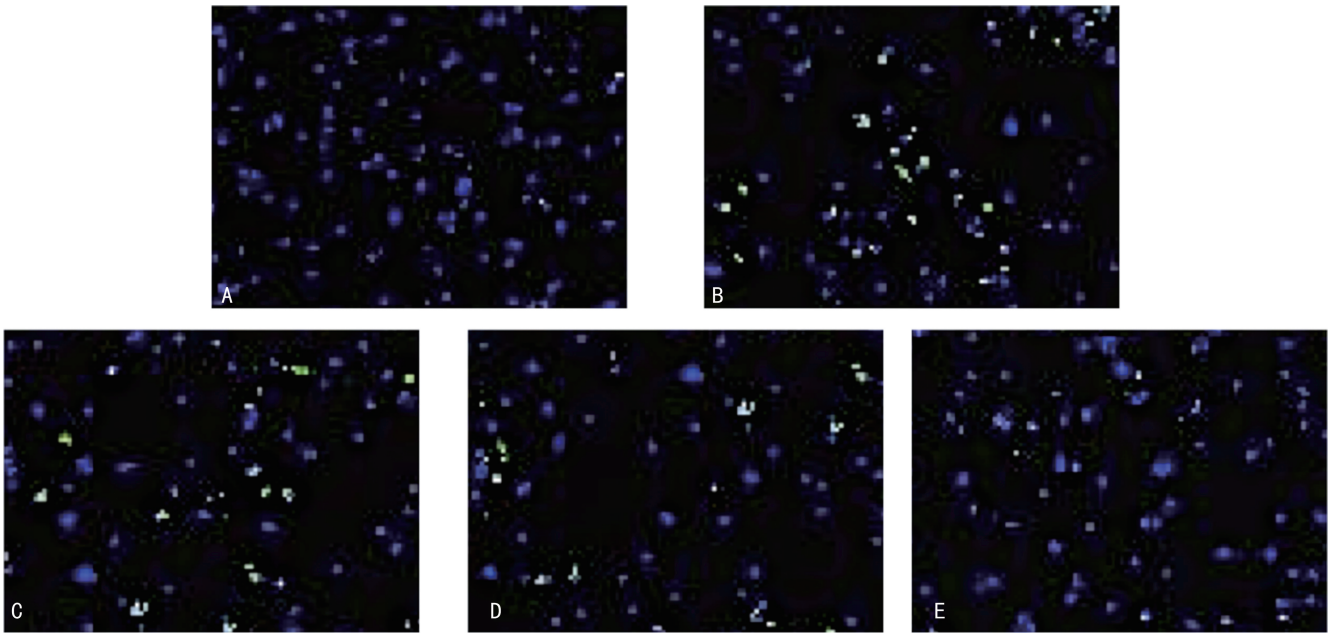
1.3.6 免疫印迹法检测蛋白表达水平 收集细胞,加入裂解液、裂解细胞、提取蛋白,检测蛋白浓度后将含有 20 μ g 蛋白的样本加入聚丙烯酰胺凝胶,进行垂直电泳及水平电转膜;取电转后的硝酸纤维素膜,5%脱脂牛奶室温封闭 1 h 后 Cleaved caspase-3、TLR4、NF- κ B p-p65 特异性一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;次日孵育二抗后在凝胶成像仪中进行 ECL 显影,得到蛋白条带并扫描灰度值,以 β -actin 为内参,计算 Cleaved caspase-3、TLR4、NF- κ B p-p65 的表达水平。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 软件进行实验数据的统计学处理,本文所有实验数据均为呈正态分布的计量资料,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD- t 法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 艾拉莫德对 OA 软骨细胞模型凋亡水平的影响 与对照组比较,模型组 A_{490} 降低、凋亡率增加($P < 0.05$);与模型组比较,不同浓度艾拉莫德组 A_{490} 升高、凋亡率降低($P < 0.05$)且艾拉莫德调节增殖活力凋亡的作用呈浓度依赖。TUNEL 染色见图 1, A_{490} 及凋亡率的比较见表 1。

2.2 艾拉莫德对 OA 软骨细胞模型凋亡基因表达的影响 与对照组比较,模型组 Cleaved caspase-3 的表达水平增加($P < 0.05$);与模型组比较,不同浓度艾拉莫德组 Cleaved caspase-3 的表达水平降低($P < 0.05$)且艾拉莫德调节 Cleaved caspase-3 表达的作用呈浓度依赖,见图 2。



注:A 为对照组;B 为模型组;C 为 0.6 mg/L 艾拉莫德组;D 为 1.2 mg/L 艾拉莫德组;E 为 1.8 mg/L 艾拉莫德组。

图 1 对照组、模型组、不同浓度艾拉莫德组细胞的 TUNEL 染色

表 1 对照组、模型组、不同浓度艾拉莫德组 A_{490} 及凋亡率的比较($n=4,\bar{x}\pm s$)			
组别	艾拉莫德浓度(mg/L)	A_{490}	凋亡率(%)
对照组	0	1.05 ± 0.13	0.31 ± 0.08
模型组	0	$0.52\pm 0.06^*$	$6.79\pm 0.81^*$
不同浓度艾拉莫德组	0.6	$0.70\pm 0.05^\#$	$4.51\pm 0.56^\#$
	1.2	$0.81\pm 0.07^\#$	$3.32\pm 0.44^\#$
	1.8	$0.94\pm 0.08^\#$	$1.84\pm 0.22^\#$

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较, $^\#P<0.05$ 。

2.3 艾拉莫德对 OA 软骨细胞模型炎症反应的影响
与对照组比较,OA 模型组 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平增加($P<0.05$);与 OA 组比较,不同浓度艾拉莫德组 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平降低($P<0.05$)且艾拉莫德调节组 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平的作用呈浓度依赖。

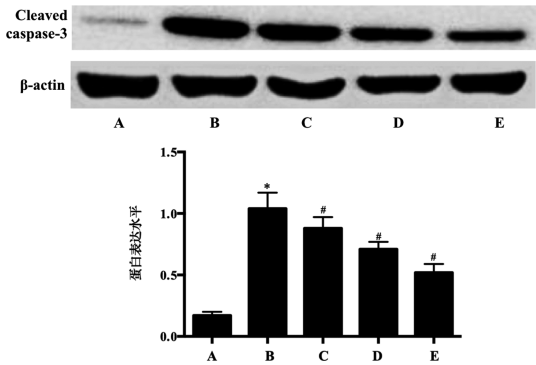
表 2 对照组、模型组、不同浓度艾拉莫德组 TNF- α 、IL-6、IL-8 水平比较($n=4,\bar{x}\pm s$)

组别	艾拉莫德浓度(mg/L)	TNF- α (ng/mL)	IL-6(ng/mL)	IL-8(pg/mL)
对照组	0	3.41 ± 0.62	8.19 ± 1.03	109.39 ± 14.82
模型组	0	$12.09\pm 1.75^*$	$26.57\pm 2.84^*$	$254.67\pm 29.29^*$
艾拉莫德组	0.6	$9.14\pm 1.19^\#$	$20.03\pm 2.57^\#$	$193.47\pm 22.12^\#$
	1.2	$7.58\pm 0.93^\#$	$15.65\pm 1.94^\#$	$152.38\pm 15.86^\#$
	1.8	$5.05\pm 0.61^\#$	$11.35\pm 1.47^\#$	$131.02\pm 11.47^\#$

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较, $^\#P<0.05$ 。

2.4 艾拉莫德对 OA 软骨细胞模型 TLR4、NF- κ B p-p65 表达的影响
与对照组比较,模型组 TLR4、NF- κ B p-p65 的表达水平增加($P<0.05$);与 OA 组比较,不同浓度艾拉莫德组 TLR4、NF- κ B p-p65 的表达水

见表 2。



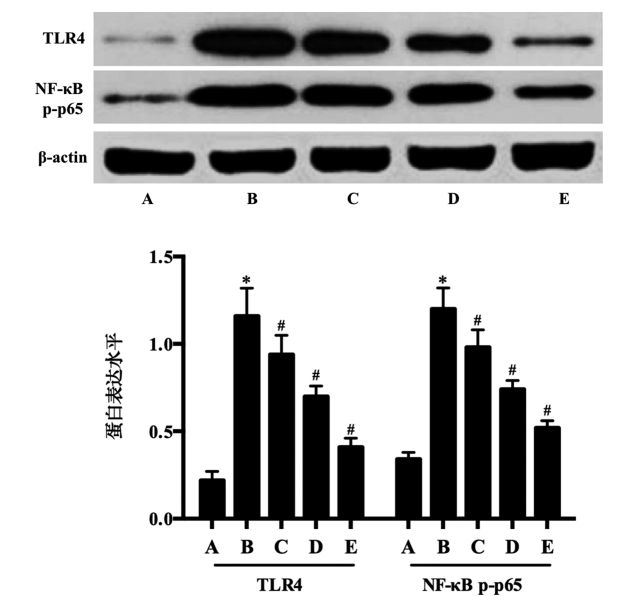
注:A 为对照组;B 为模型组;C 为 0.6 mg/L 艾拉莫德组;D 为 1.2 mg/L 艾拉莫德组;E 为 1.8 mg/L 艾拉莫德组。与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较, $^\#P<0.05$ 。

图 2 对照组、模型组、不同浓度艾拉莫德组 Cleaved caspase-3 表达水平比较

平降低($P<0.05$)且艾拉莫德调节 TLR4、NF- κ B p-p65 表达的作用呈浓度依赖。见图 3。

2.5 过表达 TLR4 对艾拉莫德抑制 OA 软骨细胞模型 TLR4、NF- κ B p-p65 表达的影响
与 pcDNA 对照

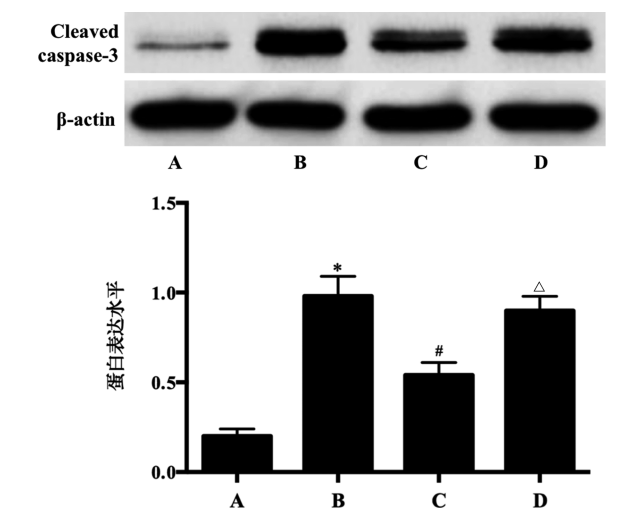
组比较,pcDNA 模型组中 TLR4、NF-κB p-p65 的表达水平增加($P<0.05$);与 pcDNA 模型组比较,pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组中 TLR4、NF-κB p-p65 的表达水平降低($P<0.05$);与 pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组比较,pcDNA-TLR4+1.8 mg/L 艾拉莫德组中 TLR4、NF-κB p-p65 的表达水平增加($P<0.05$)。见图 4。



注:A为对照组;B为模型组;C为0.6 mg/L 艾拉莫德组;D为1.2 mg/L 艾拉莫德组;E为1.8 mg/L 艾拉莫德组;与对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$ 。

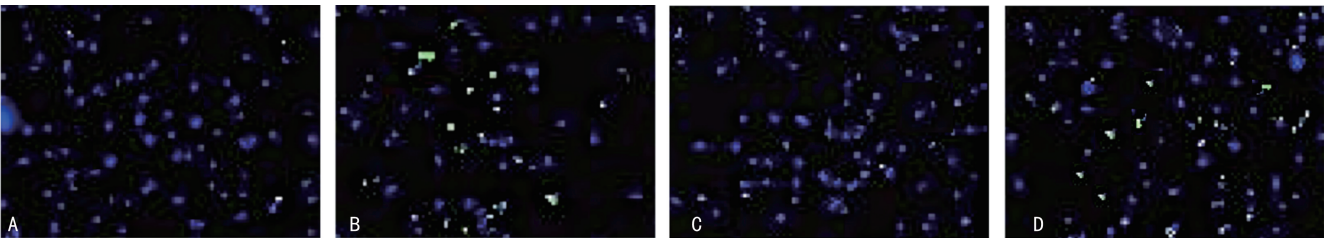
图3 对照组、模型组、不同浓度艾拉莫德组 TLR4、NF-κB p-p65 表达水平比较

2.6 过表达 TLR4 对艾拉莫德降低 OA 软骨细胞模型凋亡水平的影响 与 pcDNA 对照组比较,pcDNA 模型组 A_{490} 降低、凋亡率增加($P<0.05$);与 pcDNA 模型组比较,pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组增殖活力 A_{490} 增加、凋亡率降低($P<0.05$);与 pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组比较,pcDNA-TLR4+1.8 mg/L 艾拉莫德组增殖活力 A_{490} 降低、凋亡率增加($P<0.05$)。TUNEL 染色见图 5, A_{490} 及凋亡率的比较见表 3。



注:A为 pcDNA 对照组;B为 pcDNA 模型组;C为 pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组;D为 pcDNA-TLR4+1.8 mg/L 艾拉莫德组;与 pcDNA 对照组比较,* $P<0.05$;与 pcDNA 模型组比较,# $P<0.05$;与 pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组比较,Δ $P<0.05$ 。

图4 各组细胞 TLR4、NF-κB p-p65 表达水平比较



注:A为 pcDNA 对照组;B为 pcDNA 模型组;C为 pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组;D为 pcDNA-TLR4+1.8 mg/L 艾拉莫德组。

图5 各组细胞的 TUNEL 染色

表 3	各组细胞 A_{490} 及凋亡率的比较 ($n=5, \bar{x} \pm s$)		
组别	A_{490}	凋亡率	
pcDNA 对照组	1.08±0.11	0.37±0.06	
pcDNA 模型组	0.49±0.04*	6.04±0.93*	
pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组	0.91±0.12#	2.06±0.31#	
pcDNA-TLR4+1.8 mg/L 艾拉莫德组	0.52±0.05Δ	5.16±0.77Δ	

注:与 pcDNA 对照组比较,* $P<0.05$;与 pcDNA 模型组比较,# $P<0.05$;与 pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组比较,Δ $P<0.05$ 。

2.7 过表达 TLR4 对艾拉莫德抑制 OA 软骨细胞模型凋亡基因表达的影响 与 pcDNA 对照组比较,pcDNA 模型组中 cleaved caspase-3 的表达水平增加($P<0.05$);与 pcDNA 模型组比较,pcDNA+1.8

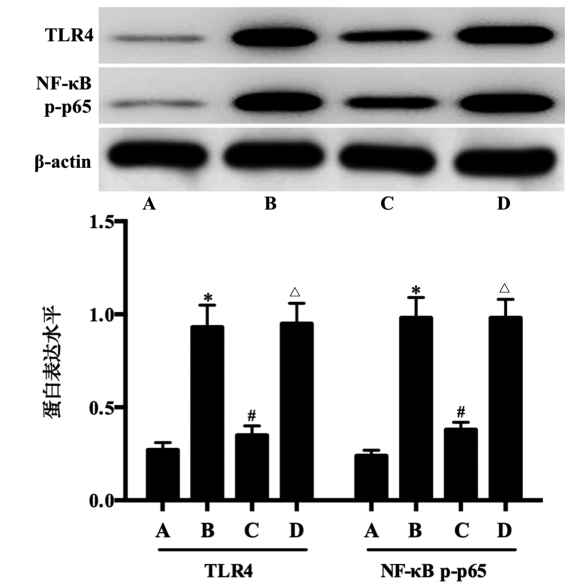
mg/L 艾拉莫德组中 cleaved caspase-3 的表达水平降低($P<0.05$);与 pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组比较,pcDNA-TLR4+1.8 mg/L 艾拉莫德组中 cleaved caspase-3 的表达水平增加($P<0.05$)。见图 6。

2.8 过表达 TLR4 对艾拉莫德抑制 OA 软骨细胞模型炎症反应的影响 与 pcDNA 对照组比较,pcDNA 模型组 TNF-α、IL-6、IL-8 的水平增加($P<0.05$);与 pcDNA 模型组比较,pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组 TNF-α、IL-6、IL-8 的水平增加降低($P<0.05$);与 pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组比较,pcDNA-TLR4+1.8 mg/L 艾拉莫德组 TNF-α、IL-6、IL-8 的水平增加($P<0.05$)。见表 4。

表 4 各组细胞 TNF-α、IL-6、IL-8 水平比较 (n=5, $\bar{x} \pm s$)

组别	TNF-α(ng/mL)	IL-6(ng/mL)	IL-8(pg/mL)
pcDNA 对照组	3.72±0.56	8.75±1.25	117.24±15.09
pcDNA 模型组	13.11±1.88 [*]	28.11±2.94 [*]	260.33±31.44 [*]
pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组	6.01±0.81 [#]	12.58±1.77 [#]	140.24±19.48 [#]
pcDNA-TLR4+1.8 mg/L 艾拉莫德组	11.85±1.52 [△]	30.18±3.48 [△]	252.31±22.94 [△]

注:与 pcDNA 对照组比较, ^{*} P<0.05;与 pcDNA 模型组比较, [#] P<0.05;与 pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组比较, [△] P<0.05。



注:A为 pcDNA 对照组;B为 pcDNA 模型组;C为 pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组;D为 pcDNA-TLR4+1.8 mg/L 艾拉莫德组。与 pcDNA 对照组比较, ^{*} P<0.05;与 pcDNA 模型组比较, [#] P<0.05;与 pcDNA+1.8 mg/L 艾拉莫德组比较, [△] P<0.05。

图 6 各组细胞 cleaved caspase-3 表达水平的比较

3 讨 论

软骨细胞是关节软骨内合成软骨基质的唯一细胞,对于维持软骨正常的结构和功能具有重要意义。软骨细胞在慢性炎症、机械应力的刺激下发生损伤会导致关节软骨基质降解并逐步出现软骨退行性改变、继发性骨质增生和骨赘形成等 OA 特征性改变。因此,保护关节软骨细胞是治疗 OA 的关键。但目前常用的非甾体类药物、氨基葡萄糖、硫酸软骨素等药物虽然能够起到抗炎镇痛、促进软骨基质修复的作用,但无法直接保护软骨细胞、逆转软骨退行性变的作用,寻找新的 OA 治疗药物及手段具有迫切的临床需求。

艾拉莫德是一种新型的类风湿关节炎治疗药物,具有抑制炎症及免疫调节活性,相关的细胞实验证实该药物用于处理类风湿关节炎滑膜细胞能够抑制炎症反应和细胞凋亡^[6-7]。近些年,陆续有学者报道了艾拉莫德用于 OA 治疗的价值。虽然该药品目前未获得治疗 OA 的适应证,但国内一项随机对照研究将艾拉莫德用于 OA 治疗,结果证实艾拉莫德显著减轻疼痛、改善关节功能、抑制炎症反应^[8];另一项细胞实

验证实艾拉莫德对 OA 软骨细胞模型的细胞基质降解具有抑制作用^[5],提示艾拉莫德可能通过延缓或逆转关节软骨退行性改变的途径发挥 OA 治疗价值,但目前关于艾拉莫德对 OA 发病过程中软骨细胞的保护作用尚缺乏直接证据,这也使艾拉莫德用于 OA 治疗缺乏足够的基础研究证据。

本研究设计了细胞实验,采用与既往其他学者相同的 10 ng/mL IL-1β 刺激的方式建立 OA 软骨细胞模型并给予艾拉莫德干预^[9-10]。OA 软骨细胞模型出现了细胞凋亡和炎症反应的激活,表现为增殖活力降低,凋亡率及凋亡基因 Cleaved caspase-3 表达水平、多种炎症细胞因子水平增加,符合 OA 的特征。经艾拉莫德干预后,OA 软骨细胞模型的细胞凋亡和炎症反应均受到抑制,细胞的增殖活力增加,凋亡率及凋亡基因 Cleaved caspase-3 表达水平、多种炎症细胞因子水平均降低。以上结果表明艾拉莫德对 OA 软骨细胞模型的炎症反应和细胞凋亡具有抑制作用,这也为艾拉莫德治疗 OA 发挥软骨保护作用提供了直接的细胞实验证据,也为今后使用艾拉莫德治疗 OA 积累了基础研究资料。

艾拉莫德目前的适应证是用于类风湿关节炎的治疗,多项相关的基础研究证实艾拉莫德减轻滑膜组织炎症反应的作用与抑制 TLR4/NF-κB 通路的激活有关^[11-12]。OA 的发生、发展同样涉及 TLR4/NF-κB 通路的激活,该通路的激活显著促进软骨细胞的凋亡及炎症反应^[13-15]。本研究使用艾拉莫德对 OA 软骨细胞模型进行干预后 TLR4 及 NF-κB p-p65 的表达水平均明显降低,提示艾拉莫德在 OA 治疗过程中可能抑制软骨细胞的 TLR4/NF-κB 通路。进一步设计拯救实验,在艾拉莫德处理的同时通过转染 pcDNA-TLR4 质粒的方式增加 TLR4 及 NF-κB p-p65 的表达后,艾拉莫德减轻 OA 软骨细胞模型细胞凋亡和炎症反应的作用被逆转,表明艾拉莫德通过抑制 TLR4/NF-κB 通路减轻 OA 软骨细胞模型细胞凋亡和炎症反应,这为深入认识艾拉莫德发挥 OA 治疗价值的分子机制积累了实验数据。

综上所述,在 10 ng/mL IL-1β 刺激所建立的 OA 软骨细胞模型中,给予艾拉莫德干预能够减轻凋亡及炎症反应,这一作用与抑制 TLR4/NF-κB 通路有关,这为今后使用艾拉莫德治疗 OA、研究艾拉莫德的分子

子药理机制积累了细胞实验数据。TLR4 下游包括 MyD88 依赖途径和非 MyD88 依赖途径,本文初步揭示了艾拉莫德抗炎及抗凋亡的作用与抑制 TLR4/NF- κ B 通路有关,但具体对 MyD88 依赖途径和非 MyD88 依赖途径调控作用尚不清楚,今后应进一步探讨 TLR4 下游不同途径在艾拉莫德抗炎及抗凋亡中的作用。

参考文献

- [1] ALLAEYS C, ARNOUT N, VAN ONSEM S, et al. Conservative treatment of knee osteoarthritis[J]. Acta Orthop Belg, 2020, 86(3): 412-421.
- [2] ABRAMOFF B, CALDERA FE, ABRAMOFF B, et al. Osteoarthritis: pathology, diagnosis, and treatment options[J]. Med Clin North Am, 2020, 104(2): 293-311.
- [3] XIE S, LI S, TIAN J, et al. Igaratimod as a new drug for rheumatoid arthritis: current landscape[J]. Front Pharmacol, 2020, 26(11): 73.
- [4] 王新军, 袁银鹏, 王越, 等. 软骨细胞凋亡引发骨关节炎的机制研究进展[J]. 山东医药, 2020, 60(2): 109-112.
- [5] 彭杨茜子, 孔瑞娜, 张兰玲, 等. 基于 Wnt/ β -catenin 信号通路的艾拉莫德对白介素 1 β 诱导的大鼠退变软骨细胞基质代谢的影响研究[J]. 中国全科医学, 2019, 22(23): 2826-2832.
- [6] KONG R, GAO J, JI L, et al. Igaratimod ameliorates rheumatoid arthritis progression through regulating miR-146a mediated IRAK1 expression and TRAF6/JNK1 pathway: an in vivo and in vitro study [J]. Clin Exp Rheumatol, 2021, 39(2): 289-303.
- [7] LIN J, YU Y, WANG X, et al. Igaratimod inhibits the aggressiveness of rheumatoid fibroblast-like synoviocytes [J]. Immunol Res, 2019, 2019: 6929286.
- [8] 曾惠琼, 罗国辉, 卢小平, 等. 艾拉莫德对膝关节炎的疗

效及作用机制初探[J]. 中华生物医学工程杂志, 2019, 25(2): 216-219.

- [9] JIA Y, HE W, ZHANG H, et al. Morusin ameliorates IL-1 β -induced chondrocyte inflammation and osteoarthritis via NF- κ B signal pathway [J]. Drug Des Devel Ther, 2020, 26(14): 1227-1240.
- [10] SUN T, XUE J B, ZHOU Y L, et al. Myricitrin regulates proliferation, apoptosis and inflammation of chondrocytes treated with IL-1 β [J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2020, 66(1): 65-69.
- [11] LI G, YAMASAKI R, FANG M, et al. Novel disease-modifying anti-rheumatic drug iguratimod suppresses chronic experimental autoimmune encephalomyelitis by down-regulating activation of macrophages/microglia through an NF-kappaB pathway [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 1933.
- [12] LI C H, MA Z Z, JIAN L L, et al. Igaratimod inhibits osteoclastogenesis by modulating the RANKL and TNF-alpha signaling pathways [J]. Int Immunopharmacol, 2021, 90: 107219.
- [13] LI S, XIE F, SHI K, et al. Gossypol ameliorates the IL-1beta-induced apoptosis and inflammation in chondrocytes by suppressing the activation of TLR4/MyD88/NF-kappaB pathway via downregulating CX43 [J]. Tissue Cell, 2021, 73: 101621.
- [14] LEPETSOS P, PAPA VASSILIOU K A, PAPA VASSILIOU A G, et al. Redox and NF-kappaB signaling in osteoarthritis [J]. Free Radic Biol Med, 2019, 20(132): 90-100.
- [15] CHOI M C, JO J, PARK J, et al. NF-kappaB signaling pathways in osteoarthritic cartilage destruction [J]. Cells, 2019, 8(7): 734.

(收稿日期: 2022-08-18 修回日期: 2022-12-25)

(上接第 315 页)

- [10] 施丽娜, 费杨虹虹, 司婷婷, 等. 保乳手术和根治性手术治疗乳腺癌的疗效及对患者神经降压素和神经降压素受体 1 的影响 [J]. 中国妇幼保健, 2021, 36(9): 2175-2178.
- [11] 赵翠翠, 刘红. 年轻乳腺癌的分子生物学发病机制 [J]. 肿瘤防治研究, 2020, 47(3): 213-217.
- [12] 王成志, 邓华云, 庞智, 等. MUC1 在 HER2 阳性乳腺癌发病中的作用及机制研究 [J]. 上海交通大学学报(医学版), 2021, 41(7): 839-846.
- [13] 贾圣陶, 赵雅雯, 王克朕, 等. Pentraxin 3 蛋白在乳腺癌中的表达及其临床意义 [J]. 天津医科大学学报, 2021, 27(5): 515-519.
- [14] 李镠玮, 曹奔奔, 张婷, 等. 基于生物信息数据库分析 FEN1 基因在乳腺癌中的表达及其临床意义 [J]. 浙江医学, 2021, 43(3): 268-273.
- [15] 吴杨, 梅颖颖, 高庆红, 等. FEN1 在口腔癌相关成纤维细胞中的表达及其与 PCNA 的关系 [J]. 口腔疾病防治, 2018, 26(6): 354-359.

- [16] 宋飞. FEN1 siRNA 对胃癌细胞生物学特性的影响及机制研究 [J]. 中华解剖与临床杂志, 2017, 22(6): 510-514.
- [17] 张超, 郎洁, 王伟杰, 等. GTF2IP23 在乳腺癌中表达及对癌细胞增殖、侵袭的影响 [J]. 生物技术, 2020, 30(6): 531-535.
- [18] 周树伟, 苏蓓蓓, 冯跃庆, 等. 通用转录因子 II i 假基因 23 在乳腺癌中的表达及其对通用转录因子 II i 表达的影响 [J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(12): 918-922.
- [19] 何海蕾, 孙俊峰, 王羽, 等. 口腔鳞癌组织中 KDM4A 表达与患者临床病理参数和预后的关系 [J]. 山东医药, 2018, 58(29): 8-11.
- [20] 孙黎, 戴宇翊, 邹曼, 等. KDM4A 调控肝癌细胞增殖机制 [J]. 医药导报, 2019, 38(7): 856-859.
- [21] 吴维, 杨熹, 徐丰. 组蛋白赖氨酸去甲基化酶 4A 对结直肠癌进展的影响 [J]. 中华实验外科杂志, 2020, 37(12): 2241-2243.

(收稿日期: 2022-08-23 修回日期: 2022-11-23)