

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.24.003

文章编号: 1005-8982(2016)24-0011-07

论著

淫羊藿苷联合地塞米松对人髓核细胞增殖及分泌表达的影响

冯仲锴, 孙永强, 刘汝银, 岳宗进, 王新立

(河南中医学院第二附属医院 骨科脊柱病区, 河南 郑州 450002)

摘要:目的 探讨淫羊藿苷(ICA)与地塞米松(Dex)联合作用对人髓核细胞(hNPs)增殖及聚集蛋白聚糖(Aggrecan)、II型胶原蛋白(Col2a)、IL-6、IL-8和基质金属蛋白酶(MMP-13)表达的影响。**方法** 取生长状态良好的hNPs按不同处理因素分为:control组(只含培养基)、ICA组(20 μmol/L ICA)、Dex组(0.2 μmol/L Dex)、ICA+Dex组(20 μmol/L ICA+0.2 μmol/L Dex)、IL-1β组(10 ng/ml IL-1β)、ICA+IL-1β组(20 μmol/L ICA+10 ng/ml IL-1β)、Dex+IL-1β组(0.2 μmol/L Dex+10 ng/ml IL-1β)、ICA+Dex+IL-1β组(20 μmol/L ICA+0.2 μmol/L Dex+10 ng/ml IL-1β),各组作用48 h;CCK-8法检测细胞的增殖;Western blot、RT-PCR以及ELISA检测Aggrecan、Col2a、IL-6、IL-8和MMP-13表达。**结果** CCK-8结果显示:与control组比较,低浓度的ICA(≤20 μmol/L)和Dex(≤0.2 μmol/L)单独作用均提高hNPs存活率但差异无统计学意义($P>0.05$)。然而,10 μmol/L ICA和0.2 μmol/L Dex联合用药对hNPs的存活率大于单独用药($P<0.05$);Western blot、RT-PCR以及ELISA结果表明:与单独用药组相比,ICA和Dex联合作用促进Aggrecan、Col2a蛋白和mRNA表达($P<0.05$);另外,ICA和Dex联合处理抑制IL-1β诱导的hNPs炎症介质IL-6、IL-8的分泌表达($P<0.05$),同时降低MMP-13蛋白、mRNA水平($P<0.05$)。**结论** ICA与Dex联合作用对促进hNPs增殖、Aggrecan和Col2a表达有效果;同时抑制IL-1β诱导的hNPs炎症介质IL-6、IL-8和MMP-13的表达,为椎间盘退行性病变的药物治疗提供理论依据。

关键词: 淫羊藿苷;地塞米松;人髓核细胞;聚集蛋白聚糖;II型胶原蛋白;椎间盘退行性病变

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

Effect of icariin in combination with Dexamethasone on cell proliferation and secretion expression of human nucleus pulposus cells

Zhong-kai Feng, Yong-qiang Sun, Ru-yin Liu, Zong-jin Yue, Xin-li Wang

(Department of Orthopedics, Rachiotherapy Ward, Henan Province Hospital of TCM, The Second Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan 450002, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of icariin (ICA) in combination with Dexamethasone (Dex) on cell proliferation and secretion expression of Aggrecan, type II collagen (Col2a), IL-6, IL-8 and MatrixMetalloproteinase-13 (MMP-13) in human nucleus pulposus cells (hNPs). **Methods** The experiment was divided into different groups based on different treatments: control group (only culture medium), ICA group(20 μM/L ICA), Dex group(0.2 μM/L Dex), ICA + Dex group (20 μM/L ICA + 0.2 μM/L Dex), IL-1β group (10 ng/mL IL-1β), ICA + IL-1β group (20 μM/L ICA + 10 ng/mL IL-1β), Dex + IL-1β group (0.2 μM/L Dex + 10 ng/mL IL-1β), ICA+Dex + IL-1β group (20 μM/L ICA + 0.2 μM/L Dex + 10 ng/mL IL-1β). Each group was treated for 48 h. Cell proliferation was detected

收稿日期:2016-04-11

by CCK-8 assay. The expression levels of Aggrecan, Col2a, IL-6, IL-8 and MMP-13 were examined by Western blotting, RT-PCR and ELISA methods. **Results** ICA(20 $\mu\text{M/L}$) or Dex ($\leq 0.2 \mu\text{M/L}$) at low concentrations promoted hNPs proliferation, but there was no significant difference when compared with the control group ($P > 0.05$). However, 20 $\mu\text{M/L}$ ICA in combination with 0.2 $\mu\text{M/L}$ Dex significantly increased the cell survival rate of hNPs when compared with the control group, the ICA and the Dex single treatment group ($P < 0.05$). The protein and mRNA expression of Aggrecan and Col2a in hNPs were also markedly increased by ICA in combination with Dex when compared with the control group, the ICA and the Dex single treatment group ($P < 0.05$). In addition, the secretion expression of IL-6, IL-8 and MMP-13 in IL-1 β -induced hNPs were significantly inhibited by ICA in combination with Dex when compared with IL-1 β , ICA + IL-1 β or Dex + IL-1 β groups ($P < 0.05$). **Conclusions** These findings suggest that icariin in combination with Dexamethasone significantly promotes cell proliferation and the expression of Aggrecan and Col2a in hNPs, and inhibites the secretion expression of IL-6, IL-8 and MMP-13 in IL-1 β -induced hNPs, providing a preliminary experimental basis for drug treatment of intervertebral disc degeneration.

Keywords: icariin; Dexamethasone; hNPs; aggrecan; Col2a; intervertebral disc degeneration

椎间盘退行性病变是脊柱外科典型的常见病、多发病,是由椎间盘退变引起的以颈肩腰腿痛为主要表现的一系列临床综合征。其机制极其复杂,到目前为止尚不完全清楚,是一个急需解决的医学难题^[1]。促进髓核细胞的增殖,提高蛋白聚糖(Aggrecan)和 II 型胶原蛋白(type II collagen, Col2a)的含量,抑制炎症介质的产生,对改善椎间盘退行性病变至关重要^[2]。淫羊藿苷(Icariin, ICA)提取于中药淫羊藿,有强筋壮骨、增强免疫力等作用^[3]。研究发现^[4],淫羊藿苷抑制白细胞介素 8(Interleukin-8, IL-8)、白细胞介素 6(Interleukin-6, IL-6)、Col2a 和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs),从而延缓椎间盘退变过程。地塞米松(Dexamethasone, Dex)是合成的糖皮质激素,具有抗炎、抗过敏、抗休克、免疫抑制等重要生理和药理作用,已经被广泛应用^[5]。淫羊藿苷和地塞米松在改善腰椎间盘突出退行性病变方面均有相关报道,然而目前未见二者以及联合用药在髓核细胞方面的相关研究。本研究以人髓核细胞(human nucleus pulposus cells, hNPs)为研究对象,探讨 ICA 和 Dex 联合用药对 hNPs 增殖的影响,以及对 hNPs 内 Aggrecan、Col2a 表达、炎症介质和基质金属蛋白酶 13(MMP-13)的影响。以期为预防、延缓及治疗椎间盘退行性病变提高实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

hNPs (sciencell 公司), 重组人白细胞介素 1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) (Peprotech 公司), 胰酶、胎牛血清(FBS)和 DMEM/F12 培养基(Gibco 公司), 淫羊藿苷(中国食品药品检定研究院), Dex(Sigma 公

司); CCK-8 试剂盒、RIPA 裂解液和 BCA 试剂盒(上海碧云天公司), 硝酸纤维素膜(Bio-Rad 公司), Aggrecan、MMP-13 和 Col2a 兔抗(Abcam Cambridge 公司)及 β -actin 山羊抗兔二抗(北京博奥森生物技术有限公司), Trizol (Invitrogen 公司), TaKaRa Prime-Script™ RT-PCR Kit(TaKaRa 公司), PCR 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 hNPs 培养 hNPs 用含 10% FBS、DMEM/F12 培养基(pH 7.2), 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%二氧化碳的培养箱中孵育。观察细胞状态,待生长到 80%~90%融合时用 0.25%的胰蛋白酶消化传代。

1.2.2 CCK-8 检测 hNPs 增殖 取生长状态良好的 hNPs, 调整细胞浓度,按每孔 6.5×10^3 个/150 μl 密度接种至 96 孔培养板,边缘用无菌 PBS 填充,10~24 h 后根据不同处理因素将细胞随机分组:只含培养基组(control)、ICA 作用组(ICA)、Dex 作用组(Dex)、ICA 与 Dex 作用组(ICA+Dex)。ICA 作用组分别用终浓度 5、10、20 及 40 $\mu\text{mol/L}$ ICA 处理 hNPs; Dex 作用组分别用终浓度 0.1、0.2、0.4 及 0.8 $\mu\text{mol/L}$ Dex 处理细胞; ICA 与 Dex 作用组用 ICA (终浓度 10 $\mu\text{mol/L}$)和 Dex(终浓度 0.2 $\mu\text{mol/L}$)同时处理细胞。每组设 5 个复孔,每孔 200 μl ,继续培养 48 h 加入 20 μl CCK-8,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 3 h,充分震荡 10 min 后,酶标仪于 450 nm 处测吸光值。实验重复 3 次,取平均值,细胞活力以 control 组的百分比表示。

1.2.3 ELISA 检测细胞因子分泌表达水平 取生长状态良好的 hNPs,调整细胞浓度,按每孔 2.0×10^4 个/100 μl 密度接种至 24 孔培养板,10~24 h 后

根据不同处理因素将细胞随机分为两大组:对照组(control)只加培养基,实验组(IL-1 β 组)加入终浓度为 10 ng/ml IL-1 β ,其中 IL-1 β 的浓度参考文献^[7]选定。IL-1 β 组又根据不同药物作用分为:ICA+IL-1 β 组(终浓度为 10 μ mol/L ICA)、Dex+IL-1 β 组(终浓度为 0.2 μ mol/L Dex)、ICA+Dex 组(ICA 终浓度 10 μ mol/L+ 终浓度 0.2 μ mol/L Dex)处理细胞。每组设 4 个复孔,每孔 600 μ l,继续培养 48 h 收集上清液,按照 ELISA 试剂盒使用说明书检测 IL-6 及 IL-8 的含量。实验重复 3 次,取平均值。

1.2.4 Western blot 检测蛋白表达水平 将 hNPs 细胞(每孔 1.5×10^6 个/2 ml)接种于 6 孔板,检测 Aggrecan 和 Col2a 表达的实验分组及细胞处理与 1.2.2 完全相同。检测 MMP-13 表达的实验分组及细胞处理与 1.2.3 完全相同。培养 48 h 收集各组细胞,用含 RIPA 裂解液裂解细胞;BCA 法测定蛋白浓度并定量;SDS-PAGE 电泳、转膜、封闭、抗体孵育,利用免疫反应化学发光剂上机检测蛋白的表达,以 β -actin 作为内参。其中一抗为 Aggrecan(1:200)、

Col2a(1:500)和 MMP-13(1:500)兔抗抗体(1:200);二抗为 β -actin 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔抗体(1:1500)。

1.2.5 RT-PCR 检测 mRNA 表达水平 将 hNPs (每孔 1.3×10^6 个/2 ml)接种于 6 孔板,实验分组及细胞处理与 1.2.4 相同。收集到的细胞用 Trizol 法提取各组细胞的总 RNA,紫外分光光度计检测提取 RNA 浓度并纯度;将调整至同一浓度的各组总 RNA 按照 TaKaRa 逆转录试剂盒合成 cDNA;然后以 cDNA 为模板,以 β -actin 为内参,进行基因片段的扩增,PCR 引物见表 1。用 TaKaRa PrimeScriptTM RT-PCR Kit 试剂盒采用两步法 RT-PCR 检测。反应条件:94 $^{\circ}$ C, 5 min;36 个循环(95 $^{\circ}$ C, 30 s;60 $^{\circ}$ C, 35 s;72 $^{\circ}$ C, 50 s);72 $^{\circ}$ C, 终延伸 10 min。实验重复 3 次。根据 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法计算基因相对表达水平。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件进行数据处理,数据采用均数 \pm 标准方差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析和 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

表 1 实时定量 PCR 引物

基因	序列
Aggrecan	Forward: 5'-AGAATCAAGTGGAGCCGTGT-3' Reverse: 5'-GGTAGTTGGCAGTGAGACC-3'
Col2a	Forward: 5'-CATCCCACCTCTCACAGTT-3' Reverse: 5'-ACCAGTTAGTTTCCTGCCTCTG-3'
MMP-13	Forward: 5'-TAAGGAGCATGGCGACTTCT-3' Reverse: 5'-GTCTGGCGTTTTGGATGTT-3'
β -actin	Forward: 5'-GCATGGGTCAGAAGGATTCCT-3' Reverse: 5'-TCGTCCCAGTTGGTGACGAT-3'

2 结果

2.1 人髓核细胞

倒置显微镜下观察 hNPs 多呈短梭形,胞浆均匀,边界清楚。其增殖速度适中,贴壁生长较好(见图 1)。

2.2 ICA 和 Dex 联合用药对 hNPs 增殖的影响

CCK-8 检测 ICA 与 Dex 单独及联合用药对 hNPs 增殖的影响,结果显示:与 Control 组比较,低浓度的 ICA 和 Dex 单独作用均提高 hNPs 存活率,但差异没有统计学意义($P > 0.05$)(图 2A、B)。为了检测 ICA 和 Dex 联合作用对 hNPs 增殖的影响,选取 2 者促增殖效果最大时对应的药物浓度,观察 2 者联合作用对 hNPs 增殖的影响,结果发现,10 μ mol/L ICA 和 0.2 μ mol/L Dex 联合用药时 hNPs 的存活率高于单独用药时存活率(与 ICA 组比较: $P = 0.024$;与 Dex 组比较: $P = 0.032$)(图 2C)。

2.3 ICA 和 Dex 联合用药对 hNPs 表达 Aggrecan 和 Col2a 的影响

Western blot 及 RT-PCR 检测结果显示,与 control 组比较,ICA 和 Dex 单独作用促进 Aggrecan 和 Col2a 的 mRNA 及蛋白表达,差异有统计学意义(ICA 组 mRNA: $P_{Aggrecan} = 0.029$, $P_{Col2a} = 0.023$;蛋白: $P_{Aggrecan} = 0.038$, $P_{Col2a} = 0.039$;Dex 组 mRNA: $P_{Aggrecan} =$

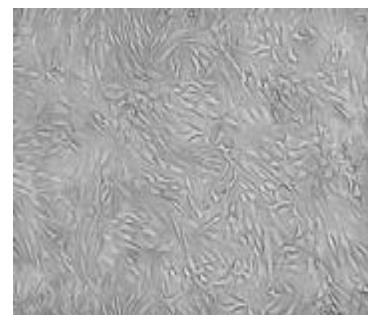


图 1 hNPs ($\times 100$)

0.024, $P_{Col2a} = 0.027$; 蛋白: $P_{Aggrecan} = 0.034, P_{Col2a} = 0.017$); 而 ICA 和 Dex 联合用药组高于单独用药组, 差异具有统计学意义 (与 ICA 组比较 mRNA: $P_{Aggrecan} = 0.01, P_{Col2a} = 0.001$; 蛋白: $P_{Aggrecan} = 0.011, P_{Col2a} = 0.006$; 与 Dex 组比较 mRNA: $P_{Aggrecan} = 0.03, P_{Col2a} = 0.024$; 蛋白: $P_{Aggrecan} = 0.029, P_{Col2a} = 0.025$)。见图 3。

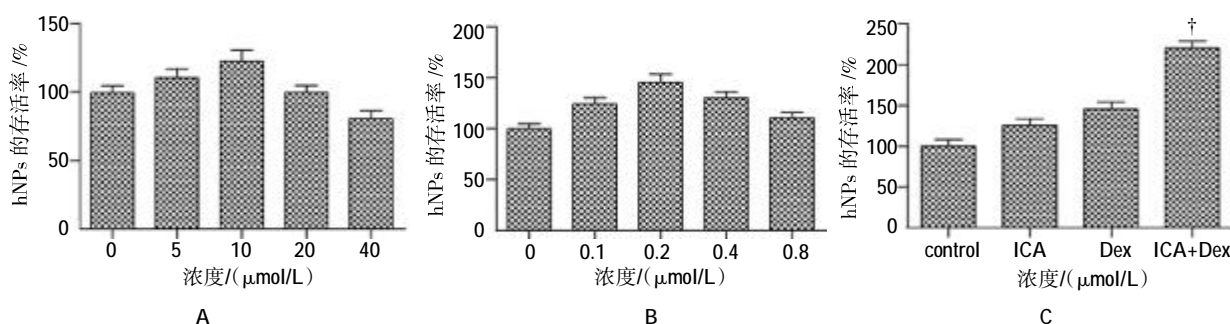
2.4 ICA 和 Dex 联合用药对 IL-1 β 诱导 hNPs 炎症介质 IL-6 及 IL-8 的影响

ELISA 检测结果显示, IL-6 和 IL-8 在 IL-1 β 组中的表达水平高于 control 组 ($P_{IL-6} = 0.003, P_{IL-8} = 0.001$); 其在 ICA 组、Dex 组及 ICA 和 Dex 联合用药组的表达水平低于 IL-1 β 组 (ICA 组: $P_{IL-6} = 0.047, P_{IL-8} = 0.016$; Dex 组: $P_{IL-6} = 0.019, P_{IL-8} = 0.015$; ICA+Dex 组: $P_{IL-6} = 0.006, P_{IL-8} = 0.002$); 而 ICA 和 Dex 联合用药组低于单独用药组, 差异具有统计学意义 (与 ICA

组比较: $P_{IL-6} = 0.007, P_{IL-8} = 0.003$; 与 Dex 组比较: $P_{IL-6} = 0.005, P_{IL-8} = 0.004$)。见图 4。

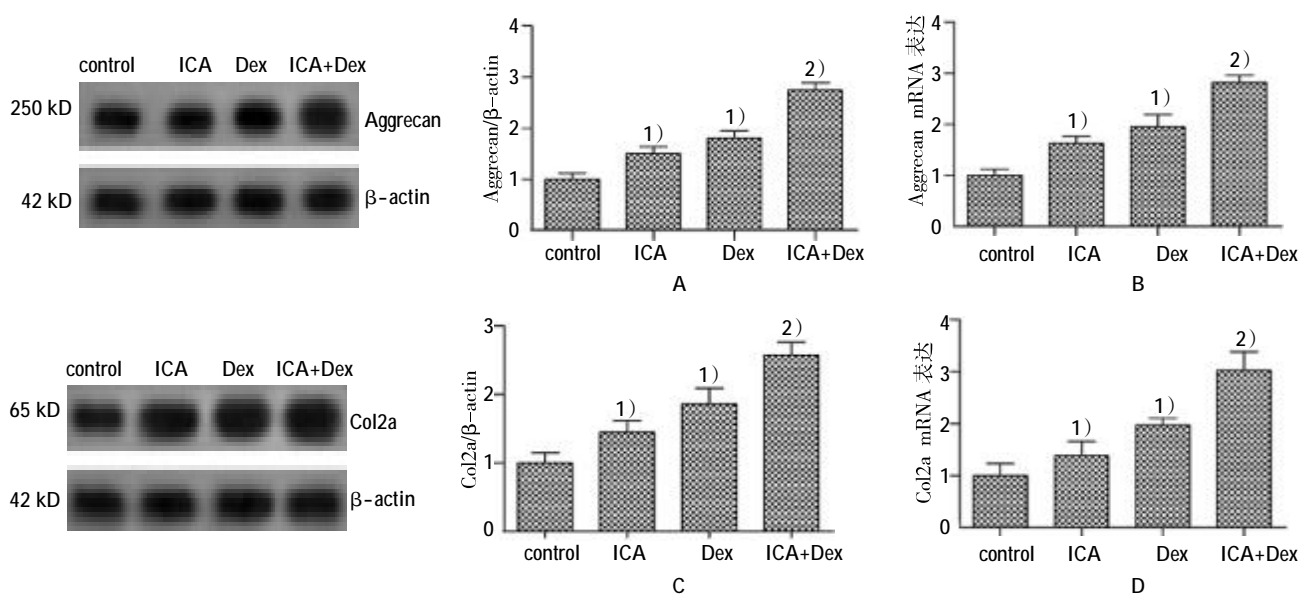
2.5 ICA 和 Dex 联合用药对 IL-1 β 诱导 hNPs 表达 MMP-13 的影响

Western blot 及 RT-PCR 检测结果显示, MMP-13 在 IL-1 β 组中的表达水平高于 control 组, 差异具有统计学意义 (mRNA: $P = 0.005$; 蛋白: $P = 0.005$); ICA 和 Dex 单独或联合作用后 IL-1 β 的表达水平低于 IL-1 β 组 (ICA 组 mRNA: $P = 0.037$; 蛋白: $P = 0.035$; Dex 组 mRNA: $P = 0.011$; 蛋白: $P = 0.013$; ICA+Dex 组 mRNA: $P = 0.004$; 蛋白: $P = 0.005$); 同时 ICA 和 Dex 联合用药组低于单独用药组, 差异具有统计学意义 (与 ICA 组比较 mRNA: $P = 0.005$; 蛋白: $P = 0.000$; 与 Dex 组比较 mRNA: $P = 0.006$; 蛋白: $P = 0.006$)。见图 5。



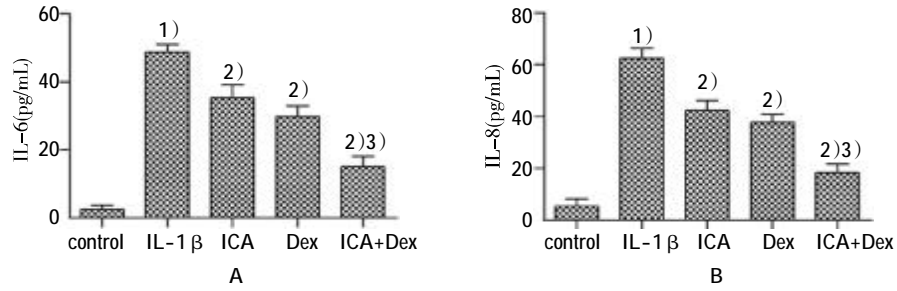
A: CCK-8 检测不同浓度的 ICA 对 hNPs 增殖的影响; B: CCK-8 检测不同浓度的 Dex 对 hNPs 增殖的影响; C: CCK-8 检测 10 μ /ML ICA 和 0.2 μ /ML Dex 对 hNPs 增殖的影响。† 与 ICA 组或 Dex 组比较, $P < 0.05$

图 2 CCK-8 法检测 ICA 和 Dex 联合用药对 hNPs 增殖的影响



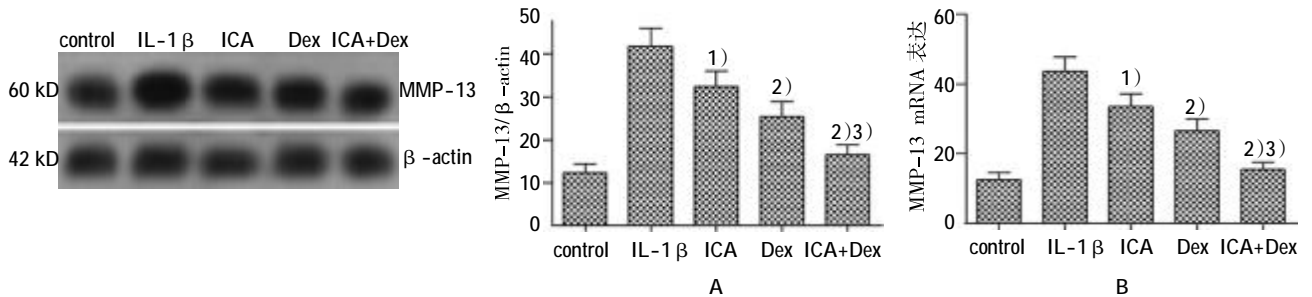
10 μ . mol/L ICA 和 0.2 μ . mol/L Dex 作用 hNPs 48 h 后: Western blot 检测 Aggrecan(A) 和 Col2a(B) 蛋白质表达水平; RT-PCR 检测 Aggrecan(C) 和 Col2a(D) mRNA 表达水平 ($n = 6$)。1) 与 control 组比较, $P < 0.05$; 2) 与 ICA 组或 Dex 组比较, $P < 0.05$

图 3 ICA 和 Dex 联合用药对 hNPs 表达 Aggrecan 和 Col2a 的影响



ELISA 检测 IL-6(A)和 IL-8(B)的分泌表达。1)与 control 组比较, $P < 0.05$; 2)与 IL-1β 组比较, $P < 0.01$; 3)与 ICA 组或 Dex 组比较, $P < 0.01$

图 4 ICA 和 Dex 联合用药对 IL-1β 诱导 hNPs 炎症介质 IL-6 及 IL-8 的影响



A:Western blot 检测 hNPs 中 MMP-13 蛋白表达;B:RT-PCR 检测 hNPs 中 MMP-13 mRNA 的表达($n=6$)。1)与 control 组比较, $P < 0.05$; 2)与 IL-1β 组比较, $P < 0.01$; 3)与 ICA 组或 Dex 组比较, $P < 0.01$

图 5 ICA 和 Dex 联合用药对 IL-1β 诱导 hNPs 表达 MMP-13 的影响

3 讨论

椎间盘退行性病变是一种慢性病变。当退行性病变发生时,椎间盘的成分、结构、功能渐进性被破坏,导致椎间盘高度和脊柱的稳定性改变,进而影响椎间盘生物力学功能,加重小关节和其他结构负担^[6]。近年来,通过药物治疗、物理疗法、针灸、推拿、生物治疗等手段及时干预退行性病变的诸多环节,维持髓核细胞数量、功能并改善其生存微环境,为扭转和修复椎间盘退行性病变带来新希望^[7]。

髓核细胞是椎间盘的主要细胞之一,是椎间盘功能的主要执行者。髓核细胞数量的减少以及细胞外基质的丢失进而导致椎间盘发生退行性病变。文献报道^[8],退行性病变椎间盘中髓核细胞凋亡率 $[(61.3 \pm 24.5)\%]$ 比正常椎间盘中髓核细胞凋亡率 $[(15.5 \pm 6.8)\%]$ 高出很多;也有研究显示^[9],Dex 可促进髓核细胞增殖,本研究通过 CCK-8 法也发现了相同的现象。另外,本研究首次发现 ICA 也可以促进髓核细胞增殖。但是 Dex 和 ICA 单独作用,增殖不显著,于是本研究将 2 者联合处理髓核细胞,发现可以促进增殖。文献报道,丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases,MAPK) 信号通路与髓核细胞增殖有关^[10]。同时,ICA 促细胞增殖作用也

与 MAPK 信号通路有关^[11],推测 2 者促髓核细胞增殖的分子机制也与 MAPK 信号通路有关。髓核细胞作为椎间盘组织工程的种子细胞,其保持和再植可延缓椎间盘退行性病变^[12],因此,可以考虑采用 Dex 和 ICA 2 者联合作用来治疗椎间盘退行性病变。

Aggrecan 和 Col2a 是椎间盘基质内最主要的蛋白基质,主要由髓核细胞分泌表达。基质内的 Aggrecan 大量结合透明质酸形成富含负电荷、具有弹性和亲水性的聚合物。当椎间盘发生退行性病变时,整个椎间盘的含水量下降,Aggrecan 含量减少,同时伴有 Col1a 的增多,Col2a 的减少。有学者发现^[9],ICA 促进腰椎间盘退行性病变的大鼠模型中 Col2a mRNA 表达,同时 Dex 可以上调兔髓核细胞中 Aggrecan、Col2a 的表达^[13]。但是,2 者在 hNPs 中的作用没有研究报道,本研究发现,Dex 和 ICA 单独作用可促进 hNPs Aggrecan 和 Col2a 表达,2 者联合作用效果更显著,提示 Dex 和 ICA 联合作用将更加有效地改善椎间盘退行性病变。

炎症因子在椎间盘退行性病变中发挥着重要的作用^[14-17]。研究显示,突出腰椎间盘组织培养液中 IL-6 含量远远高于正常椎间盘组织中的 IL-6 含量^[18],和 IL-6 一样,IL-8 也参与椎间盘组织的退

行性病变^[19];另外,白藜芦醇能够抑制退行性病变椎间盘组织中 IL-6 和 IL-8 的异常表达,对阻止颈椎间盘退行性病变具有良好作用^[20]。文献报道^[21],ICA 和 Dex 都可抑制炎症因子 IL-6 和 IL-8 的释放。但是,2 者在髓核细胞中的作用没有报道,本研究发现,ICA 和 Dex 也可抑制 IL-1 β 诱导 hNPs 炎症因子 IL-6 和 IL-8 的表达,提示其对椎间盘退行性病变有改善作用。

MMPs 是一类具有锌离子、钙离子活性的蛋白水解酶家族。其中,MMP-1、8 主要降解 III 型胶原和 I 型胶原,MMP-13 是 II 型胶原降解酶。MMPs 在椎间盘内的表达受到多种因素的调节,其中白细胞介素 1 (Interleukin-1,IL-1)、IL-6 及前列腺素 E2(Prostaglandin E2,PGE2)等炎症因子可以促进其合成^[22-23]。有学者报道,IL-6 影响 MMP-13/ 基质金属蛋白酶抑制剂 -1 (tissue inhibitor of metalloproteinase-1,TIMP-1)的平衡,从而参与椎间盘退行性病变过程^[24]。研究发现 ICA 可降低 IL-1 β 诱导的人软骨肉瘤细胞 MMP-13 表达^[25],Dex 也可降低 MMP-13 表达^[26]。但是 2 者以及联合在 hNPs 中的作用未见报道,本研究发现 2 者联合对 IL-1 β 诱导的 hNPs 表达 MMP-13 降低更加明显,提示 ICA 和 Dex 联合作用可能通过抑制炎症因子降低 MMP-13 活性,减缓基质的降解,进而改善椎间盘退行性病变。

综上所述,ICA 和 Dex 联合作用可促进 hNPs 增殖,同时增加 Aggrecan 和 Col2a mRNA 水平的表达。此外,抑制 IL-1 β 诱导的 hNPs 炎症介质 IL-6、IL-8 的分泌表达,降低 MMP-13 蛋白质、mRNA 水平。这些结果均提示 ICA 和 Dex 联合作用对改善椎间盘退行性病变有显著的效果,然而,其在退行性病变的髓核细胞以及退行性病变椎间盘的动物模型中的研究以及分子机制的探讨有待深入研究,以期为进一步研究的方向。

参 考 文 献:

- [1] 许敬人,詹红生. 椎间盘退变机制及中药对其的干预作用[J]. 临床和实验医学杂志, 2015, 14(19): 1657-1660.
- [2] 陈金栋,彭宝淦,高春华,等. 炎症与腰椎间盘退变[J]. 颈腰痛杂志, 2010, 31(6): 460-462.
- [3] TOHDA C, NAGATA A. Epimedium koreanum extract and its constituent icariin improve motor dysfunction in spinal cord injury[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012, 2012: 731208.
- [4] 赵飞,王其友. 淫羊藿苷对大鼠腰椎间盘退变影响的实验研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(10): 36-38.
- [5] MASLANKA T, JAROSZEWSKI J J. In vitro studies on the influence of dexamethasone and meloxicam on bovine WC1+ gammadelta T cells[J]. Vet Immunol Immunopathol, 2013, 151(3/4): 248-262.
- [6] BOXBERGER J I, AUERBACH J D, SEN S, et al. An in vivo model of reduced nucleus pulposus glycosaminoglycan content in the rat lumbar intervertebral disc[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2008, 33(2): 146-154.
- [7] 王锋,王运涛,吴小涛. 髓核细胞修复椎间盘退行性变的研究进展[J]. 中国修复重建外科杂志, 2009, 23(7): 864-867.
- [8] KOHYAMA K, SAURA R, DOITA M, et al. Intervertebral disc cell apoptosis by nitric oxide: biological understanding of intervertebral disc degeneration[J]. Kobe J Med Sci, 2000, 46(6): 283-295.
- [9] ABBOTT R D, PURMESSUR D, MONSEY R D, et al. Degenerative grade affects the responses of human nucleus pulposus cells to link-N, CTGF, and TGFbeta3[J]. J Spinal Disord Tech, 2013, 26(3): E86-94.
- [10] 邹隆强,梁伟国. MAKP 信号传导通路在髓核细胞研究进展[J]. 中国矫形外科杂志, 2012, 20(21): 1963-1965.
- [11] 陈洋,黄建华,宁友,等. 淫羊藿苷药理作用的分子机制研究进展[J]. 中西医结合杂志, 2011, 11(9): 1179-1183.
- [12] 袁维,王会仁,董健. 腰椎间盘髓核组织工程研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2011, 21(2): 154-158.
- [13] 周小锐,刘世清,贺斌,等. 地塞米松可影响兔髓核细胞增殖及 II 型胶原的表达[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(11): 1915-1918.
- [14] LEE J M, SONG J Y, BAEK M, et al. Interleukin-1beta induces angiogenesis and innervation in human intervertebral disc degeneration[J]. J Orthop Res, 2011, 29(2): 265-269.
- [15] LI W, LIU T, WU L, et al. Blocking the function of inflammatory cytokines and mediators by using IL-10 and TGF-beta: a potential biological immunotherapy for intervertebral disc degeneration in a beagle model[J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(10): 17270-17283.
- [16] LIANG Q Q, ZHANG M, ZHOU Q, et al. Muscone protects vertebral end-plate degeneration by antiinflammatory property[J]. Clin Orthop Relat Res, 2010, 468(6): 1600-1610.
- [17] STUDER R K, VO N, SOWA G, et al. Human nucleus pulposus cells react to IL-6: independent actions and amplification of response to IL-1 and TNF-alpha[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2011, 36(8): 593-599.
- [18] AL-OBAIDI S, MAHMOUD F. Immune responses following McKenzie lumbar spine exercise in individuals with acute low back pain: a preliminary study[J]. Acta Med Acad, 2014, 43(1): 19-29.
- [19] HOLM S, MACKIEWICZ Z, HOLM A K, et al. Pro-inflammatory, pleiotropic, and anti-inflammatory TNF-alpha, IL-6, and IL-10 in experimental porcine intervertebral disk degeneration[J]. Vet Pathol, 2009, 46(6): 1292-1300.

- [20] 欧斌, 曹奇, 陈亮元, 等. 白藜芦醇对椎间盘髓核细胞产生 IL-6 和 IL-8 的影响[J]. 中外医疗 2013(24): 57-58.
- [21] 陈昊, 乔周旻, 周超. 小剂量地塞米松对脓毒症大鼠金属基质蛋白酶 9 等炎症因子的影响[J]. 药理与毒理, 2013, 10(23): 106-108.
- [22] WEI Y, ZHI-HONG W, GUI-XING Q, et al. Extracellular signal-regulated kinase inhibition modulates rat annulus fibrosus cell response to interleukin-1[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2013, 38(17): 1075-1081.
- [23] KOTHARI P, PESTANA R, MESRAOUA R, et al. IL-6-mediated induction of matrix metalloproteinase-9 is modulated by JAK-dependent IL-10 expression in macrophages[J]. J Immunol, 2014, 192(1): 349-357.
- [24] AIDA Y, HONDA K, TANIGAWA S, et al. IL-6 and soluble IL-6 receptor stimulate the production of MMPs and their inhibitors via JAK-STAT and ERK-MAPK signalling in human chondrocytes[J]. Cell Biol Int, 2012, 36(4): 367-376.
- [25] ZENG L, WANG W, RONG X F, et al. Chondroprotective effects and multi-target mechanisms of Icaritin in IL-1 beta-induced human SW 1353 chondrosarcoma cells and a rat osteoarthritis model[J]. Int Immunopharmacol, 2014, 18(1): 175-181.
- [26] SENDZIK J, SHAKIBAEI M, SCHAFER-KORTING M, et al. Synergistic effects of dexamethasone and quinolones on human-derived tendon cells[J]. Int J Antimicrob Agents, 2010, 35(4): 366-374.

(张西倩 编辑)