

引用:宁子柳,冯帅华,吴官保,肖赛,李泽湘,杨届,谢芳,文哲,肖宇旗,苏忱,巴拉提·买提卡斯木,许铮荣.补肾活血汤对椎间盘退变模型大鼠巨噬细胞极化介导炎症-焦亡机制的影响[J].中医药导报,2025,31(9):1-8,23.



# 补肾活血汤对椎间盘退变模型大鼠巨噬细胞极化介导炎症-焦亡机制的影响\*

宁子柳<sup>1,2,3,4</sup>,冯帅华<sup>1,2,3</sup>,吴官保<sup>1,2,3</sup>,肖 赛<sup>1,2,3</sup>,李泽湘<sup>1,2</sup>,杨 届<sup>1,2</sup>,谢 芳<sup>1,2</sup>,文 哲<sup>1,2</sup>,肖宇旗<sup>1,2,3</sup>,苏 忱<sup>1,2,3</sup>,巴拉提·买提卡斯木<sup>1,2,3</sup>,许铮荣<sup>1,2,3</sup>

(1.湖南省中西医结合医院,湖南 长沙 410006;

2.湖南省中医药研究院,湖南 长沙 410013;

3.湖南中医药大学,湖南 长沙 410208;

4.广安门医院保定医院,河北 保定 071000)

**[摘要]** 目的:基于巨噬细胞极化反应和核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3(NLRP3)/胱天蛋白酶-1(Caspase-1)/白细胞介素-1β(IL-1β)信号通路之间的互作机制,探讨补肾活血汤(BHD)对大鼠椎间盘退变(IDD)模型的抗炎、抗焦亡作用。方法:从44只SPF级SD雄性大鼠中随机取12只大鼠为空白对照组,其余32只为手术造模组。手术造模组大鼠采用新式纤维环穿刺造模方法建立IDD大鼠模型。将30只造模成功的大鼠按随机数字表分成模型对照组、中药组、抑制剂(MCC950)组,每组10只。各组予以相应药物干预4周。干预周期结束后全部处死,取出其尾椎椎间盘组织。苏木精-伊红(HE)染色观察椎间盘病理形态并进行组织学分级评分;透射电镜(TEM)观察髓核细胞超微结构及焦亡情况;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测椎间盘组织中肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平;免疫组化法(IHC)检测椎间盘组织中M0型巨噬细胞标记蛋白CD68、M1型巨噬细胞标记蛋白CD197、NLRP3、Caspase-1、IL-1β蛋白阳性表达水平;蛋白质印迹法(Western blotting)检测椎间盘中组织中NLRP3、Caspase-1、IL-1β蛋白相对表达量。结果:空白对照组大鼠椎间盘组织形态结构正常,纤维环排列整齐致密;模型对照组大鼠椎间盘形态结构混乱,髓核组织变形、排列混乱,纤维环裂隙;中药组及MCC950组大鼠椎间盘组织结构基本完整,可见髓核组织少量肿胀、变形,纤维环稍有裂隙。模型对照组大鼠组织学分级评分高于空白对照组( $P<0.01$ );中药组及MCC950组大鼠组织学分级评分低于模型对照组( $P<0.01$ )。模型对照组大鼠髓核细胞焦亡小体数量高于空白对照组( $P<0.01$ );中药组及MCC950组大鼠髓核细胞焦亡小体数量均低于模型对照组( $P<0.01$ )。模型对照组大鼠椎间盘组织中TNF-α水平高于空白对照组( $P<0.01$ );中药组及MCC950组大鼠椎间盘组织中TNF-α水平低于模型对照组( $P<0.01$ )。模型对照组大鼠椎间盘组织中CD68、CD197、NLRP3、Caspase-1、IL-1β阳性表达水平高于空白对照组( $P<0.01$ );中药组及MCC950组大鼠椎间盘组织中CD68、CD197、NLRP3、Caspase-1、IL-1β阳性表达水平均低于模型对照组( $P<0.01$ )。模型对照组大鼠椎间盘组织中NLRP3、Caspase-1、IL-1β蛋白相对表达量高于空白对照组( $P<0.01$ );中药组及MCC950组大鼠椎间盘组织中NLRP3、Caspase-1、IL-1β蛋白相对表达量均低于模型对照组( $P<0.01$ )。结论:补肾活血汤可能通过抑制巨噬细胞极化介导NLRP3/Caspase-1/IL-1β焦亡通路,抑制巨噬细胞浸润、极化,减少促炎因子释放及髓核细胞焦亡,从而减轻IDD模型大鼠椎间盘组织病理损伤。

**[关键词]** 椎间盘退变;补肾活血汤;巨噬细胞;炎症;NLRP3;Caspase-1;IL-1β;细胞焦亡;大鼠

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-951X(2025)09-0001-08

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.2025.09.001

Effect of Bushen Huoxue Decoction(补肾活血汤) on the Macrophage Polarization-Mediated Inflammation-Pyroptosis Mechanism in Rat Models of Intervertebral Disc Degeneration

\*基金项目:湖南省自然科学基金面上项目(2023JJ30365,2022JJ30025);湖南省中医药科研计划项目(A2023016,B2024033,B2024038);长沙市自然基金项目(kq2403134);湖南中医药大学研究生创新课题(2023CX42)

通信作者:吴官保,男,主任医师,教授,研究方向为中医药防治脊柱与关节疾病

NING Ziliu<sup>1,2,3,4</sup>, FENG Shuaihua<sup>1,2,3</sup>, WU Guanbao<sup>1,2,3</sup>, XIAO Sai<sup>1,2,3</sup>, LI Zexiang<sup>1,2</sup>, YANG Jie<sup>1,2</sup>, XIE Fang<sup>1,2</sup>,  
WEN Zhe<sup>1,2</sup>, XIAO Yuzhan<sup>1,2,3</sup>, SU Chen<sup>1,2,3</sup>, BALATI Maitikasimu<sup>1,2,3</sup>, XU Zhengrong<sup>1,2,3</sup>

(1.Hunan Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital, Changsha Hunan 410006, China;

2.Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha Hunan 410013, China; 3.Hunan University of Chinese  
Medicine, Changsha Hunan 410208, China; 4.Guang'anmen Hospital Baoding Hospital,  
Baoding Hebei 071000, China)

[Abstract] Objective: To explore the anti-inflammatory and anti-pyroptosis effects of Bushen Huoxue Decoction (BHD) on a rat model of intervertebral disc degeneration (IDD), based on the interaction mechanism between macrophage polarization response and nucleotide oligomerization domain-like receptor thermal protein domain 3 (NLRP3)/cysteinyl aspartate specific proteinase-1 (Caspase-1) / interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) signaling pathway. Method: Among 44 SPF-grade male SD rats, 12 rats were randomly selected as blank control group, and the remaining 32 were the surgical model group. The surgical model group rats were modeled using a new annulus fibrosus puncture modeling method to establish the IDD rat model. Totally 30 successfully modeled rats were randomly divided into model control group, traditional Chinese medicine group and inhibitor (MCC950) group according to the random number table, with 10 rats in each group. Each group was given corresponding drug intervention for 4 weeks. After the intervention cycle ended, all rats were sacrificed and the caudal intervertebral disc tissues were removed. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the pathological morphology of intervertebral discs and conduct histological grading and scoring. The ultrastructure and pyroptosis of nucleus pulposus cells were observed by transmission electron microscopy (TEM). The level of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in intervertebral disc tissue was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The positive expression levels of M0-type macrophage marker protein (CD68) and M1-type macrophage marker protein (CD197, NLRP3, Caspase-1 and IL-1 $\beta$ ) in intervertebral disc tissues were detected by immunohistochemistry (IHC). The relative expression levels of NLRP3, Caspase-1 and IL-1 $\beta$  proteins in the tissues of intervertebral discs were detected by Western blotting. Result: The morphological structure of the intervertebral disc tissue in the blank control group rats was normal, and the annulus fibrosus was neatly and densely arranged. In the model control group, the intervertebral disc morphology and structure of rats were disordered, and the nucleus pulposus tissue was deformed and disordered in arrangement. There were fissures in the annulus fibrosus in model control group. The intervertebral disc tissue structure was basically intact in traditional Chinese medicine group and MCC950 group. A small amount of swelling and deformation of the nucleus pulposus tissue could be observed, and there was a slight fissure in the annulus fibrosus in traditional Chinese medicine group and MCC950 group. The model control group showed higher histological score than blank control group ( $P<0.01$ ). The traditional Chinese medicine group and MCC950 group showed lower histological scores than model control group ( $P<0.01$ ). The model control group showed higher number of pyroptosis bodies in the nucleus pulposus cells, than blank control group ( $P<0.01$ ). The traditional Chinese medicine group and MCC950 group showed lower number of pyroptosis bodies in the nucleus pulposus cells, than model control group ( $P<0.01$ ). The model control group showed higher level of TNF- $\alpha$  in the intervertebral disc tissue, than blank control group ( $P<0.01$ ). The traditional Chinese medicine group and MCC950 group showed lower level of TNF- $\alpha$  in the intervertebral disc tissues, than model control group ( $P<0.01$ ). The model control group showed higher positive expression levels of CD68, CD197, NLRP3, Caspase-1 and IL-1 $\beta$  proteins in the intervertebral disc tissues, than blank control group ( $P<0.01$ ). The traditional Chinese medicine group and MCC950 group showed lower positive expression levels of CD68, CD197, NLRP3, Caspase-1 and IL-1 $\beta$  proteins in the intervertebral disc tissues, than model control group ( $P<0.01$ ). The model control group showed higher relative expression levels of NLRP3, Caspase-1 and IL-1 $\beta$  proteins in the intervertebral disc tissues, than blank control group ( $P<0.01$ ). The traditional Chinese medicine group and MCC950 group showed lower relative expression levels of NLRP3, Caspase-1 and IL-1 $\beta$  proteins in the intervertebral disc tissues, than model control group ( $P<0.01$ ). Conclusion: Bushen Huoxia Decoction may inhibit the NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$  pyroptosis pathway mediated by macrophage polarization, thereby inhibiting macrophage infiltration and polarization, reducing the release of pro-inflammatory factors and pyroptosis of nucleus pulposus cells, and alleviating the pathological damage of intervertebral disc tissue in IDD.

[Keywords] intervertebral disc degeneration; Bushen Huoxia Decoction; macrophage; inflammation; NLRP3; Caspase-1; IL-1 $\beta$ ; pyroptosis of cells; rat

椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IDD)被视为一种慢性退行性疾病,其高发病率及致残率对人类健康和社会经济产生了显著的影响<sup>[1]</sup>。多项研究结果显示,炎症反应是IDD的关键因素<sup>[2-3]</sup>。近年来的研究表明,巨噬细胞极化后介导炎症-焦亡反应的交互作用在IDD的发生发展中占据重要地位。IDD中首先表现的是巨噬细胞及其亚型的广泛浸润。巨噬细胞能够渗透到封闭的髓核组织中,其数量与椎间盘退变的程度之间存在正相关性<sup>[4]</sup>。巨噬细胞M0[表面标志物为白细胞分化抗原68(cluster of differentiation 68, CD68)]接受外界刺激后可极化为M1型促炎巨噬细胞[表面标志物为白细胞分化抗原197(cluster of differentiation 197, CD197)]<sup>[5]</sup>。促炎型巨噬细胞M1介导的下游多条炎症信号通路的激活与椎间盘的炎症、髓核细胞的焦亡密切相关<sup>[6-8]</sup>。核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3(NOD-like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3)/胱天蛋白酶-1(cysteinyl aspartate specific proteinase-1, Caspase-1)/白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )焦亡通路是M1巨噬细胞激活的关键信号通路之一。在炎症环境中,巨噬细胞极化后分泌的核苷酸结合寡聚结构域(nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors, NOD)受体与NLRP3/Caspase-1的激活以及髓核细胞焦亡密切相关,调控巨噬细胞极化炎症-焦亡通路可能在椎间盘退变的过程中发挥着重要作用<sup>[9]</sup>。因此,关于NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$ 信号轴靶向治疗IDD的研究逐渐增多<sup>[10]</sup>。在中医理论中,IDD患者最常见证型为肾虚血瘀证,临床治疗通常遵循补肾活血的原则<sup>[11]</sup>,以恢复机体的阴阳平衡和气血调和。补肾活血汤(Bushen Huoxue decoction, BHD)原方出自《伤科大成》。湖南省中西医结合医院吴官保教授在临床诊治IDD时常用此方加减,临床疗效显著。补肾活血汤能够抑制退变椎间盘组织的细胞焦亡,减缓椎间盘退变的进程,并调节IL-1 $\beta$ 、转化生长因子 $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、p38丝裂原活化蛋白激酶(p38mitogen-activated protein kinase, p38MAPK)蛋白、 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)蛋白及NLRP3等炎症因子的表达<sup>[12-13]</sup>。补肾活血汤能抑制椎间盘退变模型的多条炎症信号通路<sup>[14-15]</sup>。因此,本研究探讨了补肾活血汤对IDD模型大鼠巨噬细胞极化介导炎症-焦亡机制的影响,旨在为研究IDD的发病机制以及补肾活血汤的治疗作用提供实验依据。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF级6周龄雄性SD大鼠44只,体质量180~220 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物生产许可证号:SCXK(湘)2019-0004;动物质量合格证号:430727241100495842。大鼠饲养于湖南中医药大学动物实验中心,实验动物使用许可证号:SYXK(湘)2019-0009。饲养条件为:12 h/

12 h明暗交替,温度(23±2)℃,湿度(55±15)%,噪声≤60 dB,自由饮水进食。本研究经湖南中医药大学实验动物伦理审查委员会批准执行,伦理编号:HNUCM21-2403-26。

1.2 试剂 TNF- $\alpha$ 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(长沙艾方生物科技有限公司,批号:AF3056-A);NLRP3抗体(美国AB clonal公司,批号:A5722);苏木精染色剂(批号:AW12004)和伊红染色剂(批号:AWI2001)均购自长沙艾碧维生物科技有限公司;Caspase-1抗体(批号:24174-2-AP)和IL-1 $\beta$ 抗体(批号:773009-1-IG)均购自美国Proteintech公司;CD68抗体(批号:177-08-009)和CD197抗体(批号:297-12-010)均购自艾博抗(上海)贸易有限公司;SDS电泳缓冲液(批号:RS0025)、转移缓冲液(批号:RS0028)、SDS变性电泳上样缓冲液(批号:RS0015)和TBST洗涤缓冲液(批号:RS0017)均购自安诺伦(北京)生物科技有限公司。

1.3 主要仪器 荧光成像仪(美国LI-COR公司,型号:Odyssey-007);脱色摇床(德国Uniwersal shaker公司,型号:TS-92);低温高速离心机(德国艾本德公司,型号:5427R);荧光显微镜(德国徕卡公司,型号:DM2500);石蜡切片机(德国徕卡公司,型号:2235);脱水机(武汉俊杰电子有限公司,型号:JJ-12J);荧光差异蛋白表达分析系统(美国通用电气公司,型号:Ettan DIGE);生物分析仪(美国安捷伦科技有限公司,型号:2100)。

1.4 药物 补肾活血汤组成:熟地黄15 g,杜仲10 g,独活10 g,枸杞子10 g,补骨脂15 g,没药10 g,菟丝子10 g,当归10 g,酒山萸肉10 g,肉苁蓉10.0 g,红花6 g。熟地黄(湖南南国药都中药饮片有限公司,批号:240902);杜仲(湖南聚仁中药饮片有限公司,批号:24092301);独活(湖南华夏湘众医药有限公司,批号:241226);枸杞子(安徽民顺堂中药科技有限公司,批号:240701);补骨脂(湖南南国药都中药饮片有限公司,批号:241150);没药(湖南华夏湘众医药有限公司,批号:240821);菟丝子(湖南振兴药业有限公司,批号:24041202);当归(湖南南国药都中药饮片有限公司,批号:2408021);酒山萸肉(湖南南国药都中药饮片有限公司,批号:240302);肉苁蓉(湖南南国药都中药饮片有限公司,批号:240405);红花(湖南南国药都中药饮片有限公司,批号:240402)。中药饮片经湖南省中西医结合医院药剂科胥新元主任药师鉴定为正品,符合2020年版《中华人民共和国药典》(一部)各品种项下的相关规定。全方煎煮前加入适量饮用水浸泡30 min,再武火、文火各煎煮20 min,滤除药渣,最后加热浓缩至原有生药材质量浓度为1.04 g/mL,待冷却后储存于4 ℃的冰箱。抑制剂为NLRP3通路抑制剂MCC950(CRID钠盐)制剂(美国CSN pharm公司,批号:CSN18163-009)。

1.5 造模与分组 大鼠适应性喂养7 d后,从44只大鼠中随机抽取12只大鼠设为空白对照组,剩下32只为手术造模组。

手术造模组依照新式纤维环穿刺方法对大鼠尾椎Co4/5、Co5/6、Co6/7椎间盘建立IDD大鼠模型<sup>[16]</sup>。造模1周后,从空白对照组、手术造模组中分别随机抽取2只大鼠处死,并取出手术区域的椎间盘组织,快速脱钙后进行石蜡包埋切片,HE染色后在光镜下观测椎间盘组织中的组织结构改变情况。造模成功标准:显微镜下显示手术造模组大鼠椎间盘组织的髓核萎缩,结构紊乱,细胞出现肿胀现象,髓核与纤维环之间的界限变得模糊,部分纤维环出现撕裂且排列无序。将30只造模成功的大鼠依据随机数字表分为模型对照组、中药组、抑制剂(MCC950)组,每组10只。

1.6 药物干预 造模成功后开始干预,根据人与不同种实验动物间用药量换算公式<sup>[17]</sup>计算大鼠给药剂量。空白对照组和模型对照组予生理盐水灌胃,10.00 mL/(kg·d),灌胃时间为4周;中药组大鼠予补肾活血汤生药溶液灌胃,10.44 g/(kg·d),灌胃时间为4周。MCC950组予大鼠MCC950制剂腹腔注射,10.00 mg/(kg·d),连续注射20 d。

1.7 大鼠尾椎间盘组织取材 给药结束后,对全部大鼠使用过量吸入异氟烷方法处死大鼠。待大鼠心跳停止后,经大鼠尾部后入路切开组织,截取其Co4~7椎体节段,剥离皮肤、肌肉组织,Co4/5椎体节段浸泡在多聚甲醛中以进行石蜡切片制作(厚度4~5 μm),Co5/6、Co6/7椎体节段放置于-80 ℃冰箱中,用于电镜、ELISA、Western blotting法检测。

### 1.8 观察指标

1.8.1 大鼠尾椎椎间盘组织病理形态 苏木精-伊红染色法(hematoxylin and eosin staining, HE)染色观察椎间盘的组织形态并进行组织学分级评分。将固定好的椎间盘标本使用10% EDTA溶液脱钙6周,然后行常规石蜡包埋和切片,切片后脱蜡至水化。脱水后进行HE染色。将切片浸没于苏木精染色液染核。冲洗后将切片浸入伊红染色液中1 min,冲洗。脱水、透明、封片。显微镜下观察软骨组织病理变化并拍照。重点考察指标包括纤维环的完整性和髓核细胞的状况并进行组织学分级评分。该评分级别共三级,每一级的评分内容包含4项:纤维环结构、纤维环与髓核分界线、髓核中的基质及髓核中的细胞,满足任意一项即计1分;最低0分,最高12分。

1.8.2 髓核细胞焦亡情况 采用透射电镜(transmission electron microscope, TEM)观察尾椎椎间盘髓核细胞焦亡情况。取部分椎间盘组织于电镜固定液中固定4 h,梯度酒精、100%丙酮依次脱水,渗透、包埋后切厚约70 nm的切片,用醋酸双氧铀-柠檬酸铅染液进行铀铅双染,透射电镜观察髓核细胞超微结构改变。

1.8.3 椎间盘组织中TNF-α水平 采用ELISA检测大鼠尾椎椎间盘组织中TNF-α水平。取出放置于-80 ℃保存的椎间盘组织样本。按照蛋白提取步骤提取蛋白,测定蛋白浓度。使用BCA蛋白定量试剂盒,确保上样量的一致性。在96孔板中,分别加入标准品和待测样本,每孔100 μL。设置空白对照孔和标准品孔。将96孔板置于37 ℃温箱中孵育2 h,使抗体与抗原充分结合。用洗液工作液清洗96孔板3次,300 μL/次,甩干。向每孔加入100 μL生物素标记的抗TNF-α抗体工作液,37 ℃孵育1 h。用洗液工作液清洗96孔板3次,300 μL/次,甩干。向每

孔加入100 μL HRP标记的亲和素工作液,37 ℃孵育30 min。用洗液工作液清洗96孔板3次,300 μL/次,甩干。随即向每个孔中加入100 μL的TMB底物溶液,在37 ℃条件下避光孵育15 min。向每孔加入100 μL终止液,终止反应。使用酶标仪进行操作,在450 nm波长下,依次对每个孔的光密度(OD值)进行测量。

1.8.4 椎间盘组织中CD68、CD197、NLRP3、Caspase-1、IL-1β阳性表达水平 将厚度为4 μm的石蜡切片脱蜡水化,3%H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>封闭10 min,消除内源性过氧化物酶,微波抗原修复后,10%BSA封闭30 min,加入CD68、CD197、NLRP3、Caspase-1、IL-1β一抗(稀释比例1:100),在4 ℃环境下孵育24 h后加入HRP标记的二抗(1:400),37 ℃孵育60 min。然后DBA显色。光学显微镜下观察。使用Image-Pro Plus 6.0软件计算CD68、CD197、NLRP3、Caspase-1、IL-1β的累计光密度(Integral optical density, IOD)值进行半定量分析。

1.8.5 椎间盘组织中NLRP3、Caspase-1、IL-1β蛋白相对表达量 采用Western blotting法检测椎间盘组织NLRP3、Caspase-1、IL-1β蛋白相对表达量。取适量椎间盘组织于冰上裂解30 min,于4 ℃条件下离心(14 000 r/min,离心半径10 cm)10 min,收集上清液,BCA法蛋白定量;取适量蛋白样品进行电泳分离,5%浓缩胶60 V,10%分离胶90 V;电流300 mA湿转1.5 h,5%脱脂牛奶封闭1 h,加入NLRP3、Caspase-1、IL-1β一抗(稀释比例为1:1 000),4 ℃孵育24 h,然后TBST漂洗3次,二抗(稀释比例为1:5 000)室温下孵育1 h,添加ECL发光液暗室曝光。最后用ImageJ v1.8.0软件分析各条带灰度值,统计目的蛋白灰度值与甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)灰度值的比值。

1.9 统计学方法 采用SPSS 29.0统计软件进行数据分析。计量资料以“均数±标准差”( $\bar{x} \pm s$ )表示。计量资料符合正态分布且方差齐,则使用单因素方差分析进行多组比较,两两比较采用LSD法;若不符合正态性分布或方差不齐,采用Kruskal-Wallis H检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。使用Slide-Viewer、K-Viewer以及GraphPad Prism 10.3.0软件绘图。

## 2 结 果

2.1 各组大鼠椎间盘组织病理形态比较 空白对照组大鼠的椎间盘冠状纵切面上骨组织、纤维环组织和髓核组织结构清晰,纤维环组织呈环状排列,纤维排列规则,纤维环与髓核界限清晰;髓核细胞数量丰富,呈圆形或卵圆形;核质分明,分布均匀。模型对照组大鼠椎间盘退变加剧,表现为椎间盘纵切面未见明显髓核结构,仅见骨组织和纤维环组织;纤维环明显增厚,存在扭曲、分裂、断裂现象,细胞数量增多,分布不均匀,基质着色不均。中药组和MCC950组大鼠椎间盘组织形态结构完好,椎间盘退变情况改善,总体表现为纤维环趋于完整、排列有序,髓核细胞数量增加且形态恢复正常。(见图1)

模型对照组大鼠组织学分级评分高于空白对照组( $P < 0.01$ );中药组、MCC950组大鼠组织学分级评分均低于模型对照组( $P < 0.01$ );MCC950组大鼠组织学分级评分低于中药组( $P < 0.01$ )。(见表1)

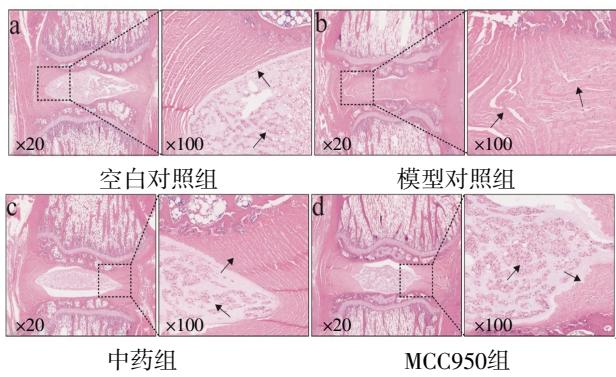


图1 各组大鼠椎间盘组织病理形态变化情况 (HE染色)

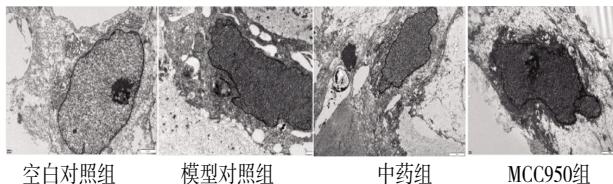
表1 各组大鼠椎间盘组织学分级评分比较 ( $\bar{x}\pm s$ , 分)

组别	n	给药剂量	组织学分级评分
空白对照组	10	10.00 mL/(kg·d)	5.03±0.16
模型对照组	10	10.00 mL/(kg·d)	11.08±0.22 <sup>a</sup>
中药组	10	10.44 g/(kg·d)	7.53±0.43 <sup>b</sup>
MCC950组	10	10.00 mg/(kg·d)	6.68±0.30 <sup>bc</sup>
F			371.322
P			0.000

注:与空白对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型对照组比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ ;与中药组比较,<sup>c</sup> $P<0.01$ 。

2.2 各组大鼠髓核细胞超微结构及焦亡小体数量比较 透射电镜下,空白对照组大鼠髓核细胞形态正常,细胞膜完整,未见明显脱落颗粒及焦亡小体,胶原纤维层整齐致密;模型对照组大鼠髓核细胞溶胀、质膜破裂,内囊颗粒脱出,细胞内线粒体、内质网严重肿胀,细胞上形成气泡状突出物(焦亡小体);中药组和MCC950组大鼠髓核细胞结构改善,脱落颗粒减少,焦亡小体及空泡结构减少,胶原纤维排列尚紧密。(见图2)

模型对照组大鼠髓核细胞焦亡小体数量高于空白对照组( $P<0.01$ );中药组和MCC950组大鼠髓核细胞焦亡小体数量均低于模型对照组( $P<0.01$ );MCC950组大鼠髓核细胞焦亡小体数量低于中药组( $P<0.01$ )。(见表2)

图2 各组大鼠髓核细胞超微结构 ( $\times 10000$ )表2 各组大鼠髓核细胞焦亡小体数量比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	给药剂量	焦亡小体数量/个
空白对照组	10	10.00 mL/(kg·d)	2.20±0.92
模型对照组	10	10.00 mL/(kg·d)	21.60±2.27 <sup>a</sup>
中药组	10	10.44 g/(kg·d)	12.90±1.79 <sup>b</sup>
MCC950组	10	10.00 mg/(kg·d)	12.50±1.84 <sup>bc</sup>
F			199.894
P			0.000

注:与空白对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型对照组比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ ;与中药组比较,<sup>c</sup> $P<0.01$ 。

2.3 各组大鼠椎间盘中TNF- $\alpha$ 水平比较 模型对照组大鼠椎间盘中TNF- $\alpha$ 水平高于空白对照组( $P<0.01$ );中药组和MCC950组大鼠椎间盘中TNF- $\alpha$ 水平低于模型对照组( $P<0.01$ );MCC950组大鼠椎间盘中TNF- $\alpha$ 水平低于中药组( $P<0.01$ )。(见表3)

表3 各组大鼠椎间盘组织TNF- $\alpha$ 水平比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	给药剂量	TNF- $\alpha$ /(pg/mL)
空白对照组	10	10.00 mL/(kg·d)	158.96±23.21
模型对照组	10	10.00 mL/(kg·d)	449.27±35.94 <sup>a</sup>
中药组	10	10.44 g/(kg·d)	297.05±12.75 <sup>b</sup>
MCC950组	10	10.00 mg/(kg·d)	276.83±19.04 <sup>bc</sup>
F			241.401
P			0.000

注:与空白对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型对照组比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ ;与中药组比较,<sup>c</sup> $P<0.01$ 。

2.4 各组大鼠椎间盘中CD68、CD197、NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 阳性表达水平比较 空白对照组大鼠椎间盘髓核细胞胞浆内仅含有极少量黄色或棕黄色颗粒,表明CD68、CD197、NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 的表达为弱阳性。模型对照组大鼠髓核细胞中上述5种蛋白的表达均为强阳性。中药组和MCC950组大鼠髓核细胞胞浆内则观察到较少的黄色颗粒,且阳性表达的强度明显低于模型对照组。(见图3)

模型对照组大鼠椎间盘组织CD68、CD197、NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 阳性表达水平高于空白对照组( $P<0.01$ );中药组和MCC950大鼠椎间盘组织CD68、CD197、NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 阳性表达水平均低于模型对照组( $P<0.01$ );MCC950大鼠椎间盘组织CD197、NLRP3阳性表达水平低于中药组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。(见表4)

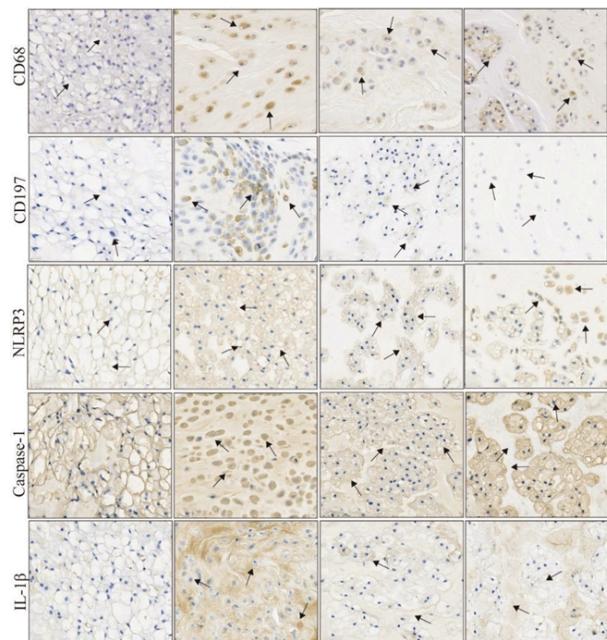
图3 各组大鼠椎间盘中CD68、CD197、NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 阳性表达情况 (免疫组化,  $\times 400$ )

表4 各组大鼠椎间盘组织 CD68、CD197、NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$  免疫组化半定量比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	给药剂量	CD68	CD197	NLRP3	Caspase-1	IL-1 $\beta$
空白对照组	10	10.00 mL/(kg·d)	454.00±50.87	38.00±2.74	5 778.20±651.61	2 984.40±325.16	9 822.00±4 787.74
模型对照组	10	10.00 mL/(kg·d)	22 353.20±2 880.14 <sup>a</sup>	891.00±95.79 <sup>a</sup>	462 082.20±48 612.21 <sup>a</sup>	64 037.60±2 908.91 <sup>a</sup>	75 106.80±2 170.47 <sup>a</sup>
中药组	10	10.44 g/(kg·d)	7 900.20±200.81 <sup>b</sup>	268.40±81.72 <sup>b</sup>	18 180.20±1 937.00 <sup>b</sup>	36 057.80±241.17 <sup>b</sup>	16 379.00±1 434.74 <sup>b</sup>
MCC950组	10	10.00 mg/(kg·d)	5 991.40±1 338.34 <sup>bc</sup>	52.20±19.61 <sup>bc</sup>	6 316.20±846.00 <sup>bd</sup>	33 007.80±1 230.01 <sup>be</sup>	17 542.80±2 947.74 <sup>be</sup>
F			172.096	196.854	413.637	122.930	378.072
P			0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与空白对照组比较,<sup>a</sup>P<0.01;与模型对照组比较,<sup>b</sup>P<0.01;与中药组比较,<sup>c</sup>P<0.05,<sup>d</sup>P<0.01,<sup>e</sup>P>0.05。

2.5 各组大鼠椎间盘中 NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$  蛋白相对表达量比较 模型对照组大鼠椎间盘中 NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$  蛋白相对表达量高于空白对照组( $P<0.01$ );中药组和 MCC950 组大鼠椎间盘中 NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$  蛋白相对表达量均低于模型对照组( $P<0.01$ );MCC950 组大鼠椎间盘中 NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$  蛋白相对表达量低于中药组( $P<0.01$ )。 (见图4、表5)

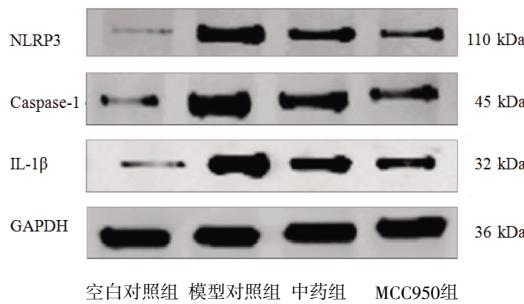


图4 各组大鼠椎间盘组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$  蛋白表达 Western blotting 图

表5 各组大鼠椎间盘组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$  蛋白相对表达量比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	给药剂量	NLRP3/GAPDH	Caspase-1/GAPDH	IL-1 $\beta$ /GAPDH
空白对照组	10	10.00 mL/(kg·d)	0.053±0.002	0.091±0.004	0.062±0.010
模型对照组	10	10.00 mL/(kg·d)	1.038±0.067 <sup>a</sup>	1.023±0.027 <sup>a</sup>	0.819±0.025 <sup>a</sup>
中药组	10	10.44 g/(kg·d)	0.577±0.032 <sup>b</sup>	0.631±0.015 <sup>b</sup>	0.573±0.013 <sup>b</sup>
MCC950组	10	10.00 mg/(kg·d)	0.263±0.035 <sup>bc</sup>	0.362±0.021 <sup>bc</sup>	0.354±0.021 <sup>bc</sup>
F			1 066.385	1 764.398	1 232.051
P			0.000	0.000	0.000

注:与空白对照组比较,<sup>a</sup>P<0.01;与模型对照组比较,<sup>b</sup>P<0.01;与中药组比较,<sup>c</sup>P<0.01。

### 3 讨论

中医理论将椎间盘退变归为“痹证”“腰痛”等范畴。痹证多因风、寒、湿等邪气外侵,或气血不足而导致经络阻塞和气血流动不顺畅而引发。腰痛则多与肾虚、肝郁、血瘀等因素相关。这些因素会导致腰部经脉气血失和,引发疼痛。久病及肾,肾虚血瘀是IDD的病理基础,故补肾活血法常用于治疗中后期IDD。IDD病机复杂,涉及虚与瘀两大核心病理因素。吴官保教授认为,IDD早期以瘀为主,晚期以虚为主,中期则需辨证论治,兼顾虚与瘀的轻重。吴官保教授根据“补中有活、活中有补”理论,在中医骨科的临床应用中广泛使用补肾活血法且效果显著。方中熟地黄、杜仲为君药,具有补肾填精、强筋健骨之功。熟地黄、杜仲相须为用,互增疗效,加强补肾壮腰、活

血通络之力。枸杞子、补骨脂共为臣药,滋补肝肾,温补肾阳。二者配伍相须为用,在辅助君药补肾的基础上,可改善腰椎间盘退变引起的气血不足症状。菟丝子补肝肾,强筋骨;当归尾活血化瘀,通络止痛;没药活血止痛,消肿散结;山萸肉补益肝肾,收敛固涩;肉苁蓉补肾助阳,润肠通便。五者共为佐助药,具有补肾壮腰、活血化瘀、通络止痛的作用,可协助君药、臣药加强补肾益精、活血化瘀之力。独活、红花为使药,其中独活祛风胜湿,通络止痛;红花活血化瘀,通络止痛。独活的应用具有双重功效:首先,它作为引经药,可以引导全身的气血汇聚于腰部,从而实现对病灶的靶向治疗;其次,独活具有祛风除湿的作用,能够有效疏通邪气的排出通道,促进湿邪排出,从而达到引导湿邪外排的效果。红花性温,能活血化瘀。在整体治疗方案中,吴官保教授提出以“补、活、通、扶、引、散、顾”七字诀为核心,旨在实现补肾壮腰、活血化瘀、通络止痛及维护正气的综合效应。这一方法不仅体现了“补中有活、活中有补”的原则,也有效达成了“扶正不留邪,祛邪不伤正”的治疗目标。

IDD作为一种退行性疾病,与椎间盘炎症反应及髓核细胞焦亡有关。巨噬细胞炎症浸润及髓核细胞的过度焦亡被认为是IDD早期发展的关键因素<sup>[18-19]</sup>。当髓核细胞受到诸如机械损伤或炎症等外部刺激时,其内部微环境稳态失衡,自我修复能力下降,最终触发细胞焦亡程序<sup>[20]</sup>。细胞焦亡是一种炎症程序性死亡方式,与椎间盘内持续的炎症状态密切相关<sup>[21]</sup>。在退变的椎间盘中,巨噬细胞浸润以及白细胞介素(IL-1 $\beta$ , IL-6)和TNF- $\alpha$ 等促炎因子的高表达进一步加剧了这一恶性循环<sup>[22-23]</sup>。巨噬细胞功能的异常会导致椎间盘微环境稳态的破坏,进而促使炎症因子的聚集、趋化及扩散,最终加速细胞外基质的降解与椎间盘的退变<sup>[24]</sup>。因此,在椎间盘退变的机制中,巨噬细胞被视为“核心效应细胞”<sup>[25]</sup>。巨噬细胞发生M1型极化时,短时间内会释放促炎因子如IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 。这种促炎因子会激活多条炎症信号通路如Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4)/核因子κB(nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF-κB)、Janus激酶(janus kinase, JAK)/信号转导与转录激活子(signal transducer and activator of trans-ions, STAT)信号通路、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)/p38MAPK,进而释放大量促炎因子,导致椎间盘退变加重<sup>[26]</sup>。在椎间盘炎症环境中,促炎型巨噬细胞M1分泌的NLRP3炎症小体的激活与椎间盘的炎症、细胞焦亡密切相关<sup>[27]</sup>。NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$ 的激活过程可分为启动和激活两个阶段。在启动阶段,TLR4/

NF- $\kappa$ B信号通路参与NLRP3炎症小体相关蛋白及IL-1 $\beta$ 前体的转录表达<sup>[28]</sup>。在此阶段,脂多糖(lipopolysaccharide,LPS)、肿瘤坏死因子(TNF)及细菌细胞壁肽聚糖的降解产物(N-acetyl muramyl-L-alanyl-D-isoglutamine,MDP)等物质与细胞膜上的白细胞介素-1受体(interleukin-1 receptor,IL-1R)、Toll样受体(TLR)、肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor,TNFR)及细胞内部的NOD样受体(NLR)进行相互作用,这一过程激活了NF- $\kappa$ B信号通路。此信号通路的激活促进了NLRP3 mRNA、前体(pro)-IL-1 $\beta$  mRNA和pro-IL-18 mRNA转录,为后续NLRP3炎症小体的组装提供了必需的结构成分,如NLRP3结构蛋白、含CARD的凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD,ASC)及Caspase-1。在接收到启动信号后,NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$ 信号复合物组装程序进入激活阶段。NLRP3炎症小体受到多种因素如病原相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern,PAMP)、损伤相关分子模式(damage-associated molecular pattern,DAMP)、病原微生物或K<sup>+</sup>的刺激,导致NLRP3结构蛋白发生寡聚化,并与含热结构域的连接蛋白ASC结合。随后,ASC招募pro-Caspase-1,最终形成完整的NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$ 信号复合物<sup>[29]</sup>。该复合物诱导细胞进入焦亡程序。综合相关研究成果,本研究推测巨噬细胞的极化和其介导下游通路NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$ 的激活可以诱导IDD或加速其进展。

本研究发现,组织形态结构混乱、丢失是IDD的主要病理表现。模型对照组大鼠的椎间盘纵切面未见明显髓核结构,仅见骨组织和纤维环组织;纤维环明显增厚,存在扭曲、分裂、断裂现象,细胞数量增多,分布不均匀,基质着色不均。模型对照组大鼠组织学分级评分高于空白对照组( $P<0.01$ )。中药组、MCC950组大鼠椎间盘退变情况改善,总体表现为纤维环趋于完整、排列有序,髓核细胞数量增加且形态恢复正常。中药组及MCC950组大鼠组织学分级评分低于模型对照组( $P<0.01$ )。本研究结果表明,补肾活血汤能改善大鼠椎间盘退变情况。模型对照组大鼠椎间盘组织中CD68、CD197、NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 阳性表达水平高于空白对照组。模型对照组大鼠椎间盘组织中焦亡诱导因子CD68、CD197、NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 活性增强,进而诱导髓核细胞明显变形。表明在IDD发生发展过程中NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$ 复合物已被激活,且诱导了髓核细胞焦亡。中药组大鼠髓核细胞形态较模型对照组完整,焦亡小体数量减少。本研究结果发现补肾活血汤能减轻IDD中髓核细胞焦亡情况。TNF- $\alpha$ 作为组织炎症反应中诱导巨噬细胞极化和NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$ 通路活化的关键启动因子,可以诱导原型巨噬细胞向促炎型巨噬细胞转变从而引发炎症级联反应,激活多条炎症通路,加速椎间盘退变<sup>[30]</sup>。本研究结果表明,模型对照组大鼠椎间盘组织中TNF- $\alpha$ 水平高于空白对照组,同时MCC950组大鼠椎间盘组织中TNF- $\alpha$ 水平低于模型对照组。TNF- $\alpha$ 参与了IDD发生发展的过程,其作用途径可能是诱导巨噬细胞迁移浸润、炎症级联反应、髓核细胞焦亡等反应。中药组大鼠椎间盘组织中TNF- $\alpha$ 水平低于模型对照组。补肾活血汤能降低IDD大鼠

椎间盘组织中TNF- $\alpha$ 含量,从而阻断其诱发后续炎症反应。IDD的发生发展过程首先表现为巨噬细胞转移到椎间盘进行浸润和极化促炎反应<sup>[31]</sup>。模型对照组大鼠椎间盘组织中CD68的IOD值高于空白对照组。巨噬细胞CD68可能参与了IDD发生发展过程,其表现形式为浸润。免疫组化染色显示,椎间盘中有大量的CD68巨噬细胞分布。中药组大鼠椎间盘组织中CD68的IOD值低于模型对照组,表明补肾活血汤可以减轻IDD椎间盘中CD68巨噬细胞的浸润情况。促炎性巨噬细胞是原位巨噬细胞接受促炎因子刺激后极化而成的<sup>[32]</sup>,它可以联合IL-1 $\beta$ 诱导下游焦亡通路NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$ 活化。本研究结果显示,模型对照组大鼠椎间盘组织中CD197的IOD值高于空白对照组,MCC950组大鼠椎间盘组织中CD197的IOD值低于模型对照组。CD68在炎症因子干预下增殖浸润后极化为促炎型CD197,进而参与IDD炎症反应并诱导NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$ 的活化。中药组大鼠椎间盘组织中CD197的IOD值低于模型对照组,表明补肾活血汤能减少椎间盘中CD197巨噬细胞的含量。本研究结果表明,补肾活血汤能够减轻M0巨噬细胞和M1巨噬细胞浸润情况。模型对照组大鼠椎间盘组织中NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 蛋白相对表达量高于空白对照组,MCC950组大鼠椎间盘组织中NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 蛋白相对表达量低于模型对照组。造模后NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$ 信号轴发生了活化,可能诱导髓核细胞进入焦亡状态。NLRP3抑制剂MCC950可以抑制NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$ 信号轴的活性。中药组大鼠椎间盘组织中NLRP3、Caspase-1、IL-1 $\beta$ 蛋白相对表达量低于模型对照组,表明补肾活血汤可抑制NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$ 信号轴活性,从而改善髓核细胞焦亡情况。

综上所述,补肾活血汤可抑制IDD大鼠椎间盘的炎症反应及髓核细胞焦亡状态,其机制可能与减少巨噬细胞浸润、抑制M0巨噬细胞向M1巨噬细胞极化、抑制NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$ 信号轴活化有关。然而本研究仅针对巨噬细胞分布、单一焦亡信号通路进行了检测分析,并未深入研究补肾活血汤对M0巨噬细胞向M1巨噬细胞极化的影响,巨噬细胞极化后补肾活血汤催化焦亡通路的形式,以及补肾活血汤在其中的干预作用,后期将进一步深入研究。

## 参考文献

- [1] WEN P F, ZHENG B L, ZHANG B F, et al. The role of ageing and oxidative stress in intervertebral disc degeneration[J]. Front Mol Biosci, 2022, 9: 1052878.
- [2] LIU Y, SUN X, WANG L L, et al. Sequential targeted enzyme -instructed self -assembly supramolecular nanofibers to attenuate intervertebral disc degeneration[J]. Adv Mater, 2024, 36(41): e2408678.
- [3] LI X G, ZHANG J, WANG B, et al. USP24-dependent stabilization of Runx2 recruits a p300/NCOA3 complex to transactivate ADAMTS genes and promote degeneration of intervertebral disc in chronic inflammation mice[J]. Biol Direct, 2023, 18(1): 37.

- [4] 王伟,姜成,黄春明,等.巨噬细胞极化在椎间盘退变的作用研究现状[J].中国矫形外科杂志,2024,32(8):715-720.
- [5] YU H R, CHENG W D, DING C B, et al. A meaningful attempt: Applying dielectric barrier discharge plasma to induce polarization of macrophages[J]. Bioelectromagnetics, 2023,44(5-6):107-118.
- [6] ZHOU Y F, CHEN Z Q, YANG X, et al. Morin attenuates pyroptosis of nucleus pulposus cells and ameliorates intervertebral disc degeneration via inhibition of the TXNIP/NLRP3/Caspase-1/IL-1 $\beta$  signaling pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2021,559:106-112.
- [7] CHI S Y, LI S Y, XU Z Q, et al. The involvement of DDX3X in compression-induced nucleus pulposus pyroptosis[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2023,655:1-10.
- [8] MA Z X, TANG P, DONG W, et al. SIRT1 alleviates IL-1 $\beta$  induced nucleus pulposus cells pyroptosis via mitochondria in intervertebral disc degeneration[J]. Int Immunopharmacol, 2022,107:108671.
- [9] ROHANIFAR M, CLAYTON S W, EASSON G W D, et al. Single cell RNA-sequence analyses reveal uniquely expressed genes and heterogeneous immune cell involvement in the rat model of intervertebral disc degeneration [J]. Appl Sci (Basel), 2022,12(16):8244.
- [10] GONG Y H, QIU J X, JIANG T, et al. Maltol ameliorates intervertebral disc degeneration through inhibiting PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B pathway and regulating NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis[J]. Inflammopharmacology, 2023,31(1):369-384.
- [11] 康佳琪,郭宵飞,苏红梅,等.补肾活血方对大鼠肾虚血瘀型腰椎间盘退变的干预作用[J].中国药物警戒,2025,22(3):249-257.
- [12] 杨届,吴官保,冯帅华,等.补肾活血汤对去势后大鼠腰椎间盘p38MAPK蛋白含量影响的研究[J].中医药导报,2017,23(2):17-20.
- [13] 冯帅华,刘仁,吴官保,等.补肾活血汤对D-半乳糖致腰椎间盘退变大鼠模型IL-1 $\beta$ 、TGF- $\beta$ 1表达的影响[J].中医药导报,2018,24(4):11-13,17.
- [14] 李明洋,杨届,蒋佳豪,等.补肾活血汤通过调控Runt相关转录因子2基因的表达改善大鼠椎间盘退变的实验研究[J].河北中医,2024,46(10):1671-1675,1681.
- [15] 冯帅华,吴官保,杨届,等.补肾活血汤调节rabHK-2外泌体对椎间盘髓核细胞凋亡及Wnt信号通路的影响[J].中药药理与临床,2023,39(5):2-8.
- [16] GE J, YAN Q, WANG Y J, et al. IL-10 delays the degeneration of intervertebral discs by suppressing the p38 MAPK signaling pathway[J]. Free Radic Biol Med, 2020,147:262-270.
- [17] 赵伟,孙国志.不同种实验动物间用药量换算[J].畜牧兽医科技信息,2010(5):52-53.
- [18] 蒋佳霖.GPNMB+巨噬细胞促进髓核细胞趋于成骨型的细胞分化命运加速椎间盘退变的分子机制研究[D].上海:中国人民解放军海军军医大学,2024.
- [19] SU S K, WU X Z, LI B, et al. Inhibition of ERK1/2 mediated activation of Drp1 alleviates intervertebral disc degeneration via suppressing pyroptosis and apoptosis in nucleus pulposus cells[J]. J Orthop Translat, 2025,51:163-175.
- [20] YAN P, SUN C, LUAN L R, et al. Hsa\_circ\_0134111 promotes intervertebral disc degeneration via sponging miR-578[J]. Cell Death Discov, 2022,8(1):55.
- [21] ZHOU D Q, MEI Y L, SONG C, et al. Exploration of the mode of death and potential death mechanisms of nucleus pulposus cells[J]. Eur J Clin Invest, 2024,54(9):e14226.
- [22] 冷佳俐,汪振宇,刘芳.miR-335-3p靶向调控CCL5在TNF- $\alpha$ 诱导椎间盘退变中相关机制[J].中国老年学杂志,2023,43(12):2956-2961.
- [23] 许洪源,江华.白细胞介素-17A介导炎症反应与椎间盘退变[J/OL].中国矫形外科杂志,2024:1-6.(2024-09-23)[2025-04-02].<https://link.cnki.net/doi/10.20184/j.cnki.Issn1005-8478.100525>.
- [24] WU X T, WANG Y X, FENG X M, et al. Update on the roles of macrophages in the degeneration and repair process of intervertebral discs[J]. Jt Bone Spine, 2023,90(3):105514.
- [25] ZHANG Y J, ZHENG L, FANG J W, et al. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) promotes intervertebral disc degeneration through the NF- $\kappa$ B pathway, and the MIF inhibitor CPSI-1306 alleviates intervertebral disc degeneration in a mouse model[J]. FASEB J, 2023,37(12):e23303.
- [26] ZHAO F, GUO Z Y, HOU F S, et al. Magnoflorine alleviates “M1” polarized macrophage-induced intervertebral disc degeneration through repressing the HMGB1/Myd88/NF- $\kappa$ B pathway and NLRP3 inflammasome [J]. Front Pharmacol, 2021,12:701087.
- [27] LIU S Q, XIE S Y, ZHANG T, et al. Impeding nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor 3 inflammasome ameliorates cardiac remodeling and dysfunction in obesity-associated cardiomyopathy[J]. J Am Heart Assoc, 2024,13(23):e035234.
- [28] CHEN J L, FENG Z L, ZHOU F, et al. 14-Deoxy-garcinol improves insulin sensitivity in high-fat diet-induced obese mice via mitigating NF- $\kappa$ B/Sirtuin 2-NLRP3-mediated adipose tissue remodeling[J]. Acta Pharmacol Sin, 2023,44(2):434-445.
- [29] LI W, LIANG J, LI S H, et al. Research progress of targeting NLRP3 inflammasome in (下转第23页)

- [13] 廖太阳,马振源,刘德仁,等.敲低核蛋白1通过抑制软骨细胞铁死亡延缓骨关节炎病理进展[J].浙江大学学报(医学版),2024,53(6):669–679.
- [14] ALLEN K D, THOMA L M, GOLIGHTLY Y M. Epidemiology of osteoarthritis[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2022, 30(2):184–195.
- [15] HE Q, LIN Y W, CHEN B H, et al. Vitamin K2 ameliorates osteoarthritis by suppressing ferroptosis and extracellular matrix degradation through activation GPX4's dual functions[J]. Biomed Pharmacother, 2024, 175:116697.
- [16] HE R, WEI Y C, PENG Z Y, et al.  $\alpha$ -Ketoglutarate alleviates osteoarthritis by inhibiting ferroptosis via the ETV4/SLC7A11/GPX4 signaling pathway[J]. Cell Mol Biol Lett, 2024, 29(1):88.
- [17] HE Q, YANG J Z, PAN Z F, 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.
- [18] SUN K, HOU L C, GUO Z, et al. JNK–JUN–NCOA4 axis contributes to chondrocyte ferroptosis and aggravates osteoarthritis via ferritinophagy[J]. Free Radic Biol Med, 2023, 200:87–101.
- [19] JIANG W, DING K X, YUE R S, et al. Therapeutic effects of icariin and icariside II on diabetes mellitus and its complications[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2024, 64(17):5852–5877.
- [20] D'AUTRÉAUX B, TOLEDANO M B. ROS as signalling molecules: Mechanisms that generate specificity in ROS homeostasis[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8(10):813–824.
- [21] SHEN Q, CHADA S, WHITNEY C, et al. Regulation of the human cellular glutathione peroxidase gene during in vitro myeloid and monocytic differentiation[J]. Blood, 1994, 84(11):3902–3908.
- [22] MAGALON J, FREY A, KAUZ J F. Intra-articular platelet-rich plasma vs placebo injection and pain and medial tibial cartilage volume in patients with knee
- [23] SUN Y X, XU A H, YANG Y, et al. Role of Nrf2 in bone metabolism[J]. J Biomed Sci, 2015, 22:101.
- [24] KANNAN S, IRWIN M E, HERBRICH S M, et al. Targeting the NRF2/HO -1 antioxidant pathway in FLT3 -ITD -positive AML enhances therapy efficacy [J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11(4):717.
- [25] FUNES S C, RIOS M, FERNÁNDEZ-FIERRO A, et al. Naturally derived heme–oxygenase 1 inducers and their therapeutic application to immune–mediated diseases[J]. Front Immunol, 2020, 11:1467.
- [26] SUN Y Y, ZHU H J, ZHAO R Y, et al. Remote ischemic conditioning attenuates oxidative stress and inflammation via the Nrf2/HO -1 pathway in MCAO mice[J]. Redox Biol, 2023, 66:102852.
- [27] YANG C C, HSIAO L D, WANG C Y, et al. HO-1 upregulation by kaempferol via ROS-dependent Nrf2 – ARE cascade attenuates lipopolysaccharide –mediated intercellular cell adhesion molecule-1 expression in human pulmonary alveolar epithelial cells[J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11(4):782.
- [28] SHENG W, LI B N, SUN T S, et al. Icariin–curcumol promotes ferroptosis in prostate cancer cells through Nrf2/HO-1 signaling[J]. Exp Ther Med, 2024, 27(5):232.
- [29] WANG H Y, SUN K X, SHAN T W, et al. Icariin promoted ferroptosis by activating mitochondrial dysfunction to inhibit colorectal cancer and synergistically enhanced the efficacy of PD-1 inhibitors[J]. Phytomedicine, 2025, 136:156224.
- [30] SHAO Y D, SUN L, YANG G H, et al. Icariin protects vertebral endplate chondrocytes against apoptosis and degeneration via activating Nrf-2/HO -1 pathway [J]. Front Pharmacol, 2022, 13:937502.
- [31] XIAO J, LUO C G, LI A M, et al. Icariin inhibits chondrocyte ferroptosis and alleviates osteoarthritis by enhancing the SLC7A11/GPX4 signaling[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 133:112010.

(收稿日期:2025-03-18 编辑:蒋凯彪)

- (上接第8页) peripheral nerve injury and pain[J]. Int Immunopharmacol, 2022, 110:109026.
- [30] 王伟,郭召,杨利新,等.miR-199及TNF- $\alpha$ 在人退变椎间盘髓核组织中的表达及生物学作用[J].河北医药,2025, 47(2):212–217.
- [31] LU S X, LI M, CHENG Z Y, et al. HMGB1-mediated

macrophage regulation of NF- $\kappa$ B activation and MMP3 upregulation in nucleus pulposus cells: A critical mechanism in the vicious cycle of intervertebral disc degeneration[J]. Cell Signal, 2025, 127:111628.

(收稿日期:2025-04-02 编辑:蒋凯彪)