

NLRP3 炎症小体在颞下颌关节骨关节炎痛觉过敏中的作用

白苗苗, 沈振国, 丁春萌, 邢田, 侯爱兵

摘要 目的 探究核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体在大鼠颞下颌关节骨关节炎 (TMJOA) 痛觉过敏中的作用。方法 选取 20 只 6 周龄雄性 SD 大鼠随机分为 NS 组和 MIA 组, 采用碘乙酸钠 (MIA) 注射颞下颌关节上腔构建实验性 TMJOA 大鼠模型; 采用 Von Frey 检测大鼠颞下颌关节 (TMJ) 区注射 MIA 后痛觉阈值变化; 苏木精-伊红 (HE)、番红固绿染色观察髁突结构的改变; HE 染色观察三叉神经节 (TG) 的病理结构改变; 免疫组化检测 TG NLRP3 蛋白表达及分布; Western blot 检测 TG NLRP3、白细胞介素 (IL)-1 β 蛋白表达; 实时荧光定量反转录聚合酶链式反应 (qRT-PCR) 检测 TG NLRP3、凋亡相关斑点状蛋白 (ASC)、半胱氨酸蛋白酶 1 (Caspase-1)、IL-1 β 、IL-18 mRNA 表达。结果 与 NS 组比较, 实验性 TMJOA 大鼠痛觉阈值下降 ($P < 0.05$); TMJ、TG 病理结构改变明显; TMJOA 组大鼠 TG 组织中表达 NLRP3 的蛋白和 mRNA 水平均升高 ($P < 0.05$)。结论 NLRP3 炎症小体可能参与调控 TMJOA 大鼠痛觉过敏。

关键词 NLRP3 炎症小体; 颞下颌关节骨关节炎; 痛觉过敏; 三叉神经节

中图分类号 R 782.6

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)04-0655-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.04.022

颞下颌关节骨关节炎 (temporomandibular joint osteoarthritis, TMJOA) 是一种以下颌髁突软骨 (mandibular condylar cartilage, MCC)、软骨下骨及其周围组织退变为主要特征的慢性疾病, 临床表现为关节疼痛、张口受限、下颌运动障碍等^[1]。研究^[2-3]显示, 约有 40% 的颞下颌关节紊乱病患者会发展为 TMJOA, 关节疼痛常常严重困扰 TMJOA 患者, 影响其生活质量, 其相关疼痛不仅与关节局部病损有关, 而且还涉及复杂的神经分子机制。目前关于 TM-

JOA 相关疼痛的治疗主要为对症治疗, 但都没有取得长期满意的疗效。

核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3) 炎症小体由 NOD 样受体 (NOD-like receptors, NLRs)、凋亡相关斑点状蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein, ASC) 和半胱氨酸蛋白酶 1 (cysteine-specific proteinase, Caspase-1) 前体组成, 主要存在于细胞质, 其可被危险信号激活。近来已被证实在炎症疼痛和痛风关节炎模型中是很有前景的治疗疼痛的靶点^[4-5]。但 NLRP3 在 TMJOA 的痛觉过敏中的作用尚无研究报道。该研究旨在探究 NLRP3 是否参与调控 TMJOA 诱导的痛觉过敏, 以期为 TMJOA 相关疼痛的临床治疗提供新靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物 20 只 6 周龄雄性 SPF 级 SD 大鼠, 体重 180~200 g, 在安徽医科大学实验动物中心购买。大鼠在标准条件下饲养, 12 h/12 h 昼夜节律, 提供充足的水和食物。实验开始前适应性饲养 1 周, 动物使用符合动物伦理委员会标准及要求 (动物伦理批号: LLSC20190123)。

1.2 主要试剂和设备 碘乙酸钠 (monosodium iodacetate, MIA) (美国 Sigma 公司); Von Frey 纤维丝 (美国 Stoelting 公司); 兔抗 NLRP3、兔抗白细胞介素 (interleukin, IL)-1 β 抗体 (成都正能公司); 鼠抗 β -actin (武汉三鹰公司); HRP 羊抗兔 IgG、HRP 羊抗鼠 IgG (北京中杉金桥公司); 实时荧光定量反转录聚合酶链式反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 引物 (北京擎科公司); 扩增试剂盒 (南京诺唯赞公司); 实时荧光 PCR 仪 (瑞士 Roche 公司); 化学发光成像仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 方法

1.3.1 大鼠 TMJOA 模型建立 将 20 只大鼠随机分为生理盐水对照 (normal saline, NS) 组和 MIA 组。将大鼠麻醉后, 注射区消毒, 在颞弓下方, 大鼠外耳

2023-02-17 接收

基金项目: 安徽省重点研究与开发计划项目 (编号: 1704J0804025)

作者单位: 安徽医科大学口腔医学院, 安徽医科大学附属口腔医院, 安徽省口腔疾病研究中心实验室, 合肥 230032

作者简介: 白苗苗, 女, 硕士研究生;

侯爱兵, 男, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail:

houaibing1964@sina.com

道和眼角连线上,距外耳道约 3 mm 处为进针点,向上前内方向进针,触及骨壁后退 1 mm,回抽无血,NS 组大鼠双侧颞下颌关节 (temporomandibular joint, TMJ) 上腔注射 50 μ l 0.9% 氯化钠溶液作为对照, MIA 组大鼠双侧 TMJ 上腔注射 50 μ l (10 mg/ml) MIA 溶液构建 TMJOA 模型。4 周后过量麻醉处死大鼠,取左侧 TMJ 和三叉神经节 (trigeminal ganglion, TG) 用石蜡包埋、组织病理学染色,取右侧 MCC 和 TG 用于 Western blot、qRT-PCR 检测。

1.3.2 疼痛行为学检测 开始实验前测量大鼠基础疼痛阈值,筛除疼痛阈值过于敏感的大鼠。测量时间分别为建模前 3 d、建模后第 1、3、5、7、14、21、28 天。在大鼠安静的状态下,使用 Von Frey 纤维丝刺激大鼠头面部眼、耳连线的中点,从最小刺激强度开始,按序递增,每个强度测量 5 次,每次间隔时间大于 30 s,直到出现缩头、逃避、挠脸、攻击等行为即为阳性结果,同一强度的 5 次刺激中阳性结果达 3 次时,则该强度为大鼠的疼痛阈值。若刺激强度达到 26 g 仍无阳性结果时,该大鼠的疼痛阈值直接判定为 26 g。

1.3.3 苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色 将 TMJ 标本在 4% 多聚甲醛中固定 24 h,置于 10% 乙二胺四乙酸 (ethylene diamine tetraacetic acide, EDTA) 中脱钙 3 个月;脱钙后的 TMJ、TG 标本石蜡包埋,切片,苏木精、伊红溶液浸染,风干,封片,显微镜下观察病理结构改变。

1.3.4 番红固绿染色 将 TMJ 标本石蜡块切片,固绿、番红“O”溶液浸染,风干,封片,显微镜下观察。

1.3.5 免疫组化染色 将 TG 标本蜡块切片,抗原修复,一抗 (NLRP3 抗体, 1 : 100) 4 $^{\circ}$ C 过夜孵育,二抗室温孵育, DAB 显色,苏木精溶液复染,封片。光镜下观察 NLRP3 在 TG 中的表达和分布情况。将 NS 组和 MIA 组每只大鼠的切片在放大 400 倍下分别随机选取 3 个视野拍照,将所得的照片导入 Image Pro Plus 6.0 软件中进行半定量分析。

1.3.6 Western blot 检测 TG 蛋白表达 TG 组织使用 RIPA 冰上裂解,提取总蛋白,取 20 ~ 50 μ g 蛋白样品上样,电泳,转膜,5% 牛奶封闭,放入一抗 NLRP3 (1 : 1 000)、IL-1 β (1 : 1 500)、 β -actin (1 : 5 000) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,二抗 (1 : 5 000) 室温孵育 120 min, ECL 发光显影。使用 Image J 软件对条带灰度值进行分析,计算各组 NLRP3 及 IL-1 β 与 β -actin 相比的相对表达量。

1.3.7 qRT-PCR 检测 MCC、TG 中 mRNA 表达 MCC、TG 组织使用 TRIzol 试剂提取总 RNA,测定总 RNA 纯度及浓度,以总 RNA 为模板依照逆转录试剂盒使用说明合成 cDNA,运用 SYBR-Green 法扩增,检测 MCC 组织中基质金属蛋白酶 13 (matrix metalloproteinase 13, MMP-13), II 型胶原 (Collagen II, Col-II) 的 mRNA 相对表达量, TG 组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 的 mRNA 相对表达量。 β -actin 为内参, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算分析。引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

目的基因	引物序列 (5'-3')
NLRP3	F: TCTCTGCATGCCGTATCTGG R: ACGGCGTTAGCAGAAATCCA
ASC	F: TGTGGACCAACACAGGCAAG R: CCAAGTAGGGCTGTGTTTGC
Caspase-1	F: GACCGACTGGTTCCTCAAG R: GACGTGTACGAGTGGGTCTT
IL-1 β	F: CTCACAGCAGCATCTCGACAAGAG R: TCCACGGGCAAGACATAGGTAGC
IL-18	F: CATACCAGAAGAAGGCTC R: TTTGTCAACGAAGAGAAC
MMP-13	F: ACCATCTGTGACTCTTGCC R: TTCACCCACATCAGGCACTC
Col-II	F: GCCAGGATGCCGAAAATTAG R: GGCTGCAAAGTTTCTCCAC
β -actin	F: CCGCGAGTACAACCTTCTTG R: GTCATCCATGGCGAAGTGGTG

1.4 统计学处理 使用 GraphPad Prism 7.0 软件对实验数据进行分析,结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。独立样本 *t* 检验用于两组实验数据的分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TMJ 组织病理学变化 取出大鼠髁突后肉眼可见 NS 组大鼠髁突表面均匀、光滑; MIA 组大鼠髁突表面变形,出现明显凹陷 (白色箭头)。HE 染色显示 NS 组大鼠髁突软骨外形正常,软骨细胞排列规则,层次分明; MIA 组大鼠颞下颌关节组织出现典型 OA 样改变,髁突软骨纤维层断裂,软骨细胞排列错乱 (黑色箭头)。番红固绿染色显示 NS 组大鼠髁突软骨基质分布均匀; MIA 组大鼠髁突软骨基质部分区域缺失达全层。见图 1。

2.2 MCC 中 mRNA 表达变化 qRT-PCR 检测 MCC 组织中的 MMP-13、Col-II 的 mRNA 相对表达量,结果显示,与 NS 组相比, MIA 组大鼠 TMJ 髁突

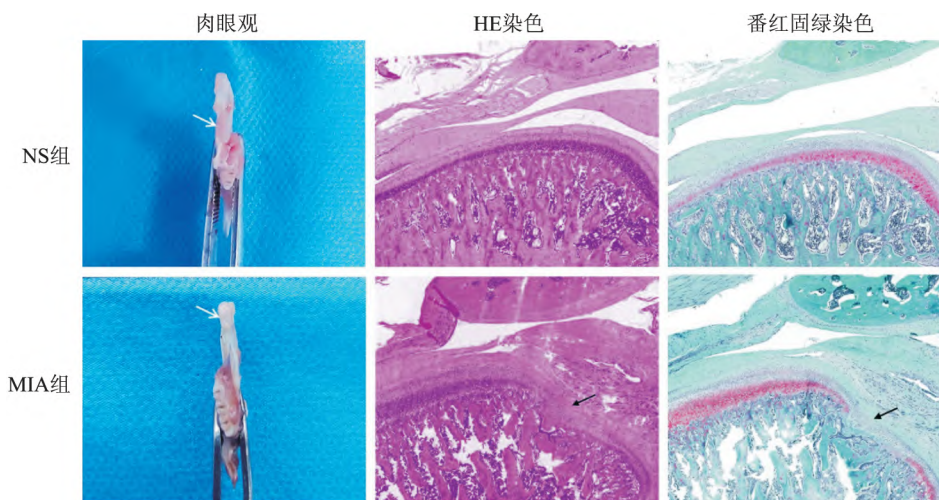


图1 大鼠踝突肉眼及切片染色(×40)观察

软骨中 *MMP-13* 的 mRNA 相对表达量升高 ($t = 3.66, P < 0.01$) 而 *Col-II* 的 mRNA 相对表达量降低 ($t = 31.21, P < 0.0001$), 差异有统计学意义。见图 2。

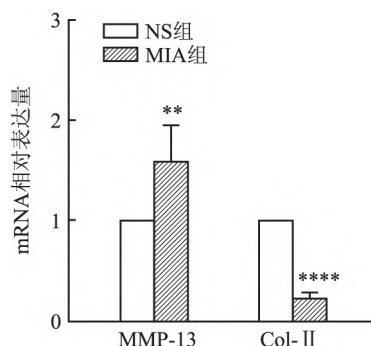


图2 大鼠 MIA *MMP-13*、*Col-II* mRNA 相对表达变化与 NS 组大鼠比较: ** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$

2.3 疼痛行为学变化 大鼠注射 MIA 后第 1 天, 疼痛阈值较注射前降低, 一直持续至第 28 天; NS 组大鼠疼痛阈值未见明显变化, MIA 组大鼠疼痛阈值明显低于 NS 组, 差异有统计学意义 ($t = 12.97, P < 0.0001$)。且在第 1 天后疼痛阈值出现降低 ($t = 9.79, P < 0.0001$), 一直持续至第 28 天, 并降至最低 ($t = 11.4, P < 0.0001$)。见图 3。上述结果表明大鼠 TMJOA 会伴随出现痛觉过敏现象。

2.4 TG 组织病理学变化 NS 组大鼠的 TG HE 染色见神经纤维均匀分布、光滑连续, 雪旺细胞核紫染, 髓鞘粉染, 髓鞘包绕轴突结构 (图 4A); MIA 注射 4 周后, MIA 组可见神经纤维变性、排列错乱, 髓鞘出现空泡样变性 (黑色箭头), 轴突连续性中断 (图 4B)。

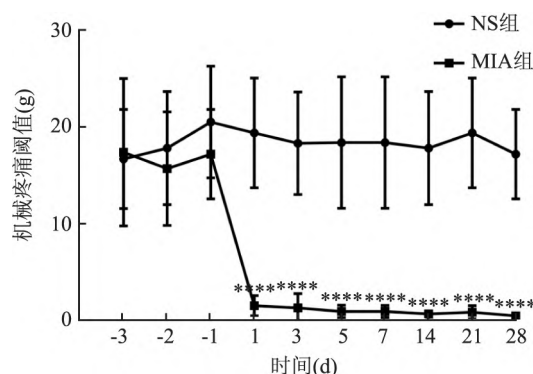


图3 大鼠疼痛阈值的变化与 NS 组比较: **** $P < 0.0001$

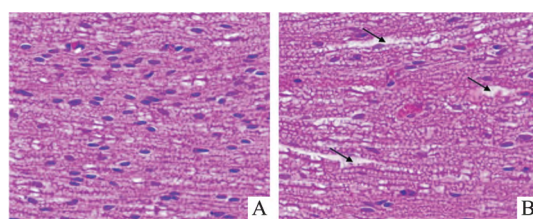


图4 NS 组(A)和 MIA 组(B)大鼠 TG HE 染色结果 ×400

2.5 TG 中 NLRP3 免疫组织化学染色 NS 组 (图 5A) 和 MIA 组 (图 5B) TG 组织切片经 NLRP3 免疫组化染色后, 均可见染色阳性细胞, 多数为圆形、椭圆形, 染色为棕黄色; NLRP3 主要表达和分布于中等体积大小神经元的细胞质中, 且 NLRP3 在 MIA 组大鼠 TG 神经元细胞内的表达高于 NS 组大鼠, 差异有统计学意义 ($t = 5.54, P < 0.001$) (图 5C)。

2.6 TG 中蛋白表达变化 Western blot 检测 TG 组织中 *NLRP3*、*IL-1β* 的蛋白水平改变, 结果显示, 与 NS 组比较, MIA 组中 *NLRP3* ($t = 4.93, P < 0.01$)、

IL-1β (t=2.96, P<0.05) 的蛋白表达升高,差异有统计学意义。见图6。

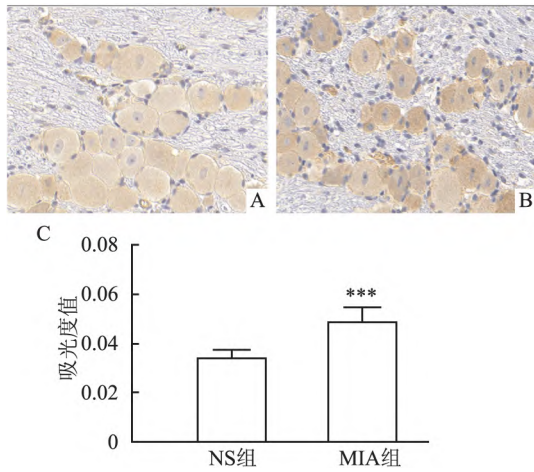


图5 大鼠TG NLRP3免疫组化染色结果 ×400

A: NS组; B: MIA组; C: NS组和MIA组TG神经元内NLRP3的吸光度值比较;与NS组大鼠比较:***P<0.001

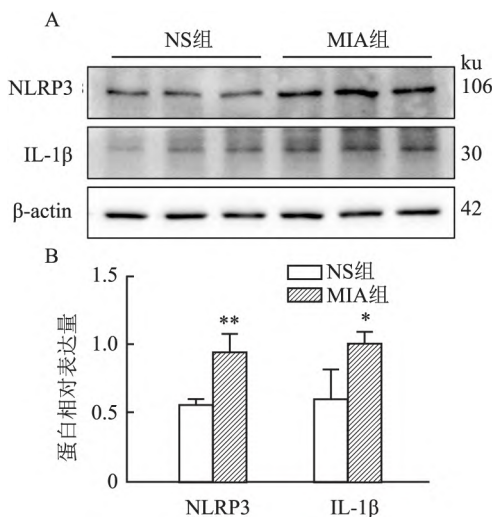


图6 大鼠TG NLRP3、IL-1β蛋白相对表达变化

A: Western blot检测NLRP3、IL-1β蛋白表达变化; B: NLRP3、IL-1β蛋白相对表达量;与NS组大鼠比较: *P<0.05, **P<0.01

2.7 TG中mRNA表达变化 qRT-PCR检测TG组织中NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1β、IL-18的mRNA水平改变,结果显示,与NS组比较,MIA组中NLRP3(t=2.25, P<0.05)、ASC(t=2.49, P<0.05)、Caspase-1(t=2.4, P<0.05)、IL-1β(t=2.43, P<0.05)、IL-18(t=2.35, P<0.05)的mRNA表达均不同程度升高,差异有统计学意义。见图7。

3 讨论

TMJOA典型的组织病理表现为MCC破坏、软

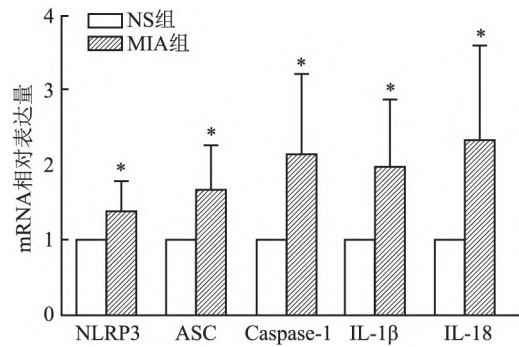


图7 大鼠TG NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1β、IL-18 mRNA相对表达变化

与NS组大鼠相比: *P<0.05

骨下骨改变、关节盘不同程度的磨损、移位、穿孔和滑膜炎。关节腔内注射化学药物诱导TMJOA模型广泛应用于该疾病的研究中。本研究参照Wang et al^[6]的方法,在关节腔内注射MIA 4周后,肉眼观和组织病理学结果显示MIA注射可引起关节软骨粗糙破损,软骨下骨退行性改变等,这与临床TMJOA患者的组织病理学变化相似,MIA关节腔内注射可以作为研究TMJOA的很可靠的实验方法^[1,7]。软骨基质的降解是MCC破坏的重要特征,软骨细胞外基质的主要成分包含I型胶原、Col-II、蛋白多糖等。MMP-13对软骨基质中的Col-II、IV型胶原纤维、IX型胶原纤维、蛋白多糖、骨粘连蛋白具有很强的破坏能力^[8]。本研究通过qRT-PCR检测软骨内相关指标的表达,结果显示MIA组大鼠MCC中MMP-13 mRNA表达相对升高,Col-II mRNA表达相对降低,这提示软骨基质的降解是TMJOA进程中的重要病理变化。

TMJOA关节疼痛是患者就诊的主要诉求之一。TG作为口腔颌面部的痛觉传导枢纽,接收口腔颌面部游离神经末梢传导的有害刺激,并将神经冲动传导至脑干、大脑的相关核团,继而产生疼痛。本研究中MIA组大鼠疼痛阈值相较NS组下降,且痛觉过敏现象可持续4周,对TG进行组织病理学检查显示TG中神经纤维脱髓鞘改变,这可能是大鼠持续疼痛的主要诱因。在神经系统中,炎症细胞因子可直接或间接地影响神经元的兴奋性,参与慢性疼痛的发生和维持。近来研究证实,NLRP3炎症小体与慢性疼痛密切相关。研究^[9]表明,脊髓中NLRP3炎症小体的激活参与调控坐骨神经慢性收缩损伤后的神经性疼痛,且阻断NLRP3炎症小体的激活可缓解神经性疼痛。另有研究^[10]表明,电针灸通过抑制皮

肤组织中 NLRP3 炎症小体的激活来减轻慢性炎性疼痛。然而, NLRP3 炎症小体在 TMJOA 引起的慢性疼痛中尚未见相关报道。本研究检测 TG 中的 NLRP3 的表达, 结果显示, 与 NS 组比较, MIA 组大鼠的 TG 中 mRNA 和蛋白表达均相对上调, 神经元细胞参与了 NLRP3 的表达, 结果提示 TG 中 NLRP3 的活化可能参与调控 TMJOA 产生的慢性疼痛。

NLRP3 炎症小体一种胞内多蛋白复合体, 在炎症反应中是主要的促炎因子生成途径, 其组装完成后可促使 *IL-1 β* 和 *IL-18* 的成熟活化^[3, 11]。*IL-1 β* 和 *IL-18* 可能通过直接机制激活痛觉感受器诱发动作电位, 诱发疼痛^[12]; 也可能通过间接机制敏化痛觉感受器或促进神经元、胶质细胞交互作用敏化疼痛传导通路^[13-14]。本研究进一步检测了 TG 中 *ASC*、*Caspase-1*、*IL-1 β* 、*IL-18* 的 mRNA 表达, MIA 注射组大鼠的 TG 中这些炎症介质的表达水平均相对升高, 可见 NLRP3 引发的炎症级联反应, 与疼痛过敏的发生和持续相关, 与学者^[15]在炎症硬脑膜刺激引起头痛的研究结果一致。

综上所述, 研究表明 MIA 关节腔内注射可以引起 TMJOA 的组织病理变化, 同时可产生持续慢性疼痛, 三叉神经节中的 NLRP3 炎症小体的激活可能参与调控。研究提示可以将 NLRP3 相关信号通路作为治疗 TMJOA 慢性疼痛的新靶点, 以期对临床治疗提供新的策略。

参考文献

- [1] 程慧欣, 白苗苗, 沈振国, 等. SGK-1 通过软骨破坏和炎性疼痛传导参与颞下颌关节骨关节炎 [J]. 安徽医科大学学报, 2022, 57(7): 1029-33.
- [2] Sannajust S, Imbert I, Eaton V, et al. Females have greater susceptibility to develop ongoing pain and central sensitization in a rat model of temporomandibular joint pain [J]. *Pain*, 2019, 160(9): 2036-49.
- [3] Harper D E, Schrepf A, Clauw D J. Pain mechanisms and centralized pain in temporomandibular disorders [J]. *J Dent Res*,

- 2016, 95(10): 1102-8.
- [4] Kelley N, Jeltema D, Duan Y, et al. The NLRP3 inflammasome: an overview of mechanisms of activation and regulation [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13): 3328.
- [5] Starobova H, Nadar E I, Vetter I. The NLRP3 Inflammasome: role and therapeutic potential in pain treatment [J]. *Front Physiol*, 2020, 19(11): 1016.
- [6] Wang X D, Kou X X, He D Q, et al. Progression of cartilage degeneration, bone resorption and pain in rat temporomandibular joint osteoarthritis induced by injection of iodoacetate [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e45036.
- [7] Liu Q, Yang H, Zhang M, et al. Initiation and progression of dental-stimulated temporomandibular joints osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2021, 29(5): 633-42.
- [8] Bauernfeind F G, Horvath G, Stutz A, et al. Cutting edge: NF-kappaB activating pattern recognition and cytokine receptors license NLRP3 inflammasome activation by regulating NLRP3 expression [J]. *J Immunol*, 2009, 183(2): 787-91.
- [9] Liu P, Cheng J, Ma S, et al. Paeoniflorin attenuates chronic constriction injury-induced neuropathic pain by suppressing spinal NLRP3 inflammasome activation [J]. *Inflammopharmacology*, 2020, 28(6): 1495-508.
- [10] Mehana E E, Khafaga A F, El-Blehi S S. The role of matrix metalloproteinases in osteoarthritis pathogenesis: an updated review [J]. *Life Sci*, 2019, 1(234): 116786.
- [11] Gao F, Xiang H C, Li H P, et al. Electroacupuncture inhibits NLRP3 inflammasome activation through CB2 receptors in inflammatory pain [J]. *Brain Behav Immun*, 2018, 67: 91-100.
- [12] Binshtok A M, Wang H, Zimmermann K, et al. Nociceptors are interleukin-1beta sensors [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(52): 14062-73.
- [13] Helyes Z, Tékus V, Szentes N, et al. Transfer of complex regional pain syndrome to mice *via* human autoantibodies is mediated by interleukin-1-induced mechanisms [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(26): 13067-76.
- [14] Liu S, Liu Y P, Lv Y, et al. IL-18 contributes to bone cancer pain by regulating glia cells and neuron interaction [J]. *J Pain*, 2018, 19(2): 186-95.
- [15] Chen L, Li X, Huang L, et al. Chemical stimulation of the intracranial dura activates NLRP3 inflammasome in trigeminal ganglion neurons [J]. *Brain Res*, 2014, 1566: 1-11.

Involvement of NLRP3 inflammasome in hyperalgesia induced by temporomandibular joint osteoarthritis

Bai Miaomiao, Shen Zhenguo, Ding Chunmeng, Xing Tian, Hou Aibing

(Stomatological College of Anhui Medical University, The Affiliated Stomatological Hospital of Anhui Medical University Key Lab of Oral Diseases Research of Anhui Province Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the role of nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome in hyperalgesia induced by temporomandibular joint osteoarthritis (TMJOA) in rats.

氟化钠亚慢性染毒致大鼠肺毒性机制的初步研究

黄大敏¹, 曾维德¹, 罗雪清², 庞雅琴¹, 郭蕊¹

摘要 目的 研究不同染毒剂量的氟化钠亚慢性染毒与大鼠肺组织病理学改变之间的关系, 探讨氟化钠致大鼠肺组织损伤的效应及相关机制。方法 32只Wistar健康雄性大鼠随机分为对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组, 每组8只, 分别给予0、12、24、48 mg/(kg·d) 氟化钠水溶液灌胃, 实验周期16周。记录各组大鼠氟牙症发生情况、体质量变化, 计算各组大鼠肺系数, 采用苏木精-伊红(HE)染色观察肺组织病理学变化, 采用酶联免疫吸附实验(ELISA)测定血清超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)含量, 采用TUNEL染色法评估肺脏细胞凋亡水平, 并通过免疫组化检测肺组织天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)蛋白表达水平。结果 染毒结束后, 低、中、高剂量组大鼠上、下颌切牙呈不同程度的氟牙症改变; 高剂量组大鼠体质量增加量低于其余3组($P < 0.05$); 高剂量组大鼠肺系数及血清中MDA含量均高于对照组($P < 0.05$); 低、中、高剂量组大鼠均出现

不同程度的肺间质炎症浸润及肺泡形态学改变; 与对照组相比, 低、中、高组大鼠的肺组织细胞凋亡率和Caspase-3蛋白表达升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 氟化钠亚慢性染毒可使大鼠肺组织出现损伤效应, 其机制可能与氧化应激诱导的细胞凋亡有关。

关键词 氟化钠; 肺脏; 氧化损伤; 凋亡

中图分类号 R 114

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)04-0660-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.04.023

氟是一种人体必需微量元素, 但长期过量的氟摄入则会引发慢性氟中毒, 可导致骨组织产生较为严重的损害效应, 同时还会造成呼吸系统、神经系统和心血管系统等方面的损害^[1-3]。电解铝生产过程中会产生大量的无机含氟烟气, 可导致生产一线的工人氟暴露。长期吸入低浓度的无机氟化合物可引起中毒性肺损伤^[4]。目前, 对氟的毒性研究主要采用给予大鼠自由饮用含氟化物溶液的方式建立氟中毒模型, 但由于大鼠存在摄食喜好偏差, 导致实际摄入氟化物的剂量与剂量分组不符的现象。为有效研究氟暴露对机体呼吸系统的损害效应, 该课题组按照体质量对大鼠进行氟化钠溶液灌胃的方式建立氟中毒模型, 对不同染毒剂量与大鼠肺组织病理学改变之间的关系进行研究, 探讨氟化钠致大鼠肺组织损伤的效应及相关机制。

2023-02-18 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81960595); 广西自然科学基金(编号: 2021GXNSFAA196068); 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(编号: 2021KY0543); 广西壮族自治区第五批自治区本级财政科技计划项目(编号: 2019JJD140011)

作者单位: 右江民族医学院¹ 公共卫生与管理学院卫生学教研室、
² 临床医学院超声科, 百色 533000

作者简介: 黄大敏, 男, 硕士, 讲师;

郭蕊, 女, 博士, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail:
763889360@qq.com

Methods Twenty 6-week-old male SD rats were randomly divided into NS group and MIA group. The rat model of TMJOA was established by injection monosodium iodoacetate (MIA) into the upper cavity of temporomandibular joint (TMJ). The changes of pain threshold in the TMJ region of rats after MIA injection were detected by Von Frey. The changes of condyle structure were observed by Hematoxylin-eosin (HE) and Safranin O-fast green stains. Histopathological changes of trigeminal ganglion (TG) were observed by HE stains. The expression and distribution of TG NLRP3 protein were detected by immunohistochemistry. Western blot was used to detect the protein levels of NLRP3 and interleukin (IL)-1 β in TG. The mRNA levels of *NLRP3*, apoptosis-associated speck-like protein (*ASC*), cysteinyl aspartate specific proteinase (*Caspase-1*), *IL-1 β* and *IL-18* in TG were detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). **Results** Compared to saline group, the pain threshold of experimental TMJ osteoarthritis rats decreased ($P < 0.05$). TMJ and TG showed obvious pathological changes. The protein and mRNA levels of NLRP3 expressed in the tissues of rats in the TMJOA group increased ($P < 0.05$).

Conclusion NLRP3 inflammasome may be involved in the regulation of hyperalgesia in TMJOA rats.

Key words NLRP3 inflammasome; temporomandibular joint osteoarthritis; hyperalgesia; trigeminal ganglion