

姜黄素通过调控 DUSP1/p38 MAPK 通路 减轻 IL-1 β 诱导的软骨细胞损伤

宋飞^{1,2}, 范学菲³, 刘楠楠³, 陈苏环³, 江敏², 陈广祎⁴, 陈唔奇⁴, 陈晓宇³, 周剑¹

(¹ 安徽医科大学第一附属医院骨科, 合肥 230022; ² 中国人民解放军联勤保障部队第 901 医院骨科, 合肥 230031; 安徽医科大学³ 组织胚胎学教研室、⁴ 临床医学系, 合肥 230022)

摘要 目的 探讨姜黄素(Cur)对 IL-1 β 诱导的软骨损伤的抑制作用,并研究 DUSP1/p38 MAPK 信号通路在上述过程中的调控机制关系。方法 将软骨细胞(C28/I2)及骨关节炎患者术后原代软骨细胞分为对照组、实验组,实验组应用 IL-1 β (10 μ g/L)行炎性诱导处理后,应用不同浓度的 Cur(0、10、20、40、60、80 μ mol/L)处理,细胞活力测定(CCK-8)细胞增殖抑制率,流式细胞实验检测细胞凋亡率,实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)、蛋白质印迹法(Western blot)以及免疫荧光实验检测 II 型胶原 α 1 链(Collagen II)、基质金属蛋白酶 13(MMP13)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、BCL2 相关 X 的蛋白质(Bax)、B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、双特异性磷酸酶 1(DUSP1)、p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38)、磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p-p38)的 RNA 和蛋白的表达水平。使用 DUSP1 干扰 RNA 和 p38 MAPK 通路抑制剂(SB)进一步验证 DUSP1/p38 MAPK 轴在 Cur 抑制软骨细胞氧化应激、凋亡与炎症中的作用。结果 Cur 显著抑制 IL-1 β 诱导的软骨细胞活力的下降,显著降低了软骨细胞的凋亡与炎症水平,Cur 抑制了 MMP13、IL-1 β 、Bax、p-p38 蛋白的表达,而 Collagen II、Bcl-2、DUSP1 蛋白的表达则明显增加;IL-1 β 和干扰 RNA 沉默 DUSP1 并激活了 p38 通路,Cur 则抑制 p38 通路的激活;使用 p38 MAPK 通路抑制剂可减轻细胞炎症。结论 Cur 通过促进 DUSP1 蛋白的表达,抑制 p38 MAPK 通路的激活,从而达到减轻 IL-1 β 所诱导的软骨细胞凋亡与炎症的作用。

关键词 姜黄素;骨关节炎;软骨;DUSP1;p38 MAPK

中图分类号 R 684.3

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)11-1903-08

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.11.003

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种常见病,在疾病的过程中,关节软骨会严重退化。软骨细胞是软骨组织中唯一具有凋亡、炎症、自噬等生理功能,在软骨退行性变过程中起重要调节作用的细胞^[1]。姜黄素(curcumin, Cur)是一种从姜黄中分离出来的多酚化合物,Cur 对正常组织的毒性很低^[2],而且它已被提出具有多种生物活性,例如抗氧化、抗感染、抗癌、化学预防和抗神经退行性特征^[3]。有研究^[4]显示,Cur 在所有研究中都显示出安全性,并改善了这些关节炎患者的炎症和疼痛程度,但其临床重要性尚不清楚。p38 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)在各种细胞刺激的信

号级联反应中起着至关重要的作用^[5]。双特异性磷酸酶 1(dual-specificity phosphatase, DUSP1),也称为 MAPK 磷酸酶-1(MAPK phosphatase-1, MKP-1),通过 p38 MAPKs 的去磷酸化,抑制该途径从而发挥其抗感染作用^[6]。该研究拟探讨在白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)诱导的软骨细胞中,Cur 能否缓解软骨细胞损伤,抑制软骨细胞凋亡和炎症,进一步体外探讨 Cur 能否通过促进 DUSP1 表达、抑制 p38 MAPK 信号通路来减轻骨关节炎的机制研究。

1 材料与方法

1.1 细胞培养 原代软骨细胞来自中国人民解放军第 901 医院骨关节炎手术后患者,C28/I2 细胞系购自美国典型生物资源保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC),细胞在高糖 DMEM(HD-MEM, 南京维森特公司)中培养,加入 10% 胎牛血清(南京维森特公司)和 1% 抗生素(青霉素-链霉素,上海碧云天公司)。人 OA 关节软骨细胞在 HD-MEM 中培养,经过 1-3 次传代后用于研究。所有的细胞都是在 37 $^{\circ}$ C、5% 的二氧化碳环境下进行培

2024-08-15 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81373421);安徽医科大学“早期接触科研”项目(编号:2022-ZQKY-19、2023-ZQKY-093)

作者简介:宋飞,男,硕士研究生;

陈晓宇,男,博士,教授,硕士生导师,通信作者, E-mail: cxyayd@163.com;

周剑,男,副主任医师,副教授,硕士生导师,通信作者, E-mail: zhoujian831207@163.com

养。分别用重组人 IL-1 β (美国派普泰克公司)、p38 MAPK 通路抑制剂 (SB, 上海 MedChemExpress 公司) 和 Cur (德国默克公司, 纯度 $\geq 98.0\%$) 进行处理。

1.2 CCK-8 检测 收集对数生长期的 C28/I2 细胞以及原代软骨细胞, 以每孔 1×10^3 的密度接种于 96 孔板, 边缘孔用 PBS 填充, 5% CO₂, 37 °C 孵育至细胞贴壁。处理后, 向每孔加入 10 μ l CCK-8 溶液 (美国渤健公司)。将培养板在培养箱内孵育 2 h。用酶标仪测定在 450 nm 处的吸光度。

1.3 细胞划痕 细胞于 6 孔板中培养 (每孔 1×10^6 个细胞)。当细胞生长到汇合时, 使用 200 μ l 微量移液器枪头在每孔中间划成线形伤口。漂浮的细胞用 PBS 洗涤 3 次, 加入 IL-1 β 处理 12 h, Cur 处理 24 h, 使用倒置显微镜 (Primovert iLED, 德国蔡司公司) 拍摄划痕图像, 并测量分析划痕之间的距离。

1.4 Western blot 使用制备的 SDS 裂解缓冲液从细胞中提取总蛋白, 用于蛋白质印迹分析。然后, 使用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶分离 12 μ g 蛋白质并印迹到聚偏二氟乙烯膜上 (PVDF, 德国默克公司)。然后将膜在 5% 脱脂牛奶中密封 1.5 h。分别加入相应一抗, β -actin (上海艾博抗公司)、Collagen II、MMP13 (沈阳万类生物公司)、DUSP1 (北京博奥森公司)、IL-1 β 、p-p38、p38、Bcl-2、Bax (沈阳万类生物公司) 4 °C 孵育过夜。然后加入 HRP 标记的二抗 (北京中杉金桥公司) 孵育 1 h, 并通过 ECL 发光系统检测免疫反应。

1.5 免疫荧光检测 4% 多聚甲醛固定细胞, 用 0.3% Triton-X 100-PBS 透明, 用 5% BSA 封闭 1 h, 然后与 SOD2、IL-1 β 、DUSP1 等抗体 (1:200 稀释) 在 4 °C 下过夜。第二天用 PBS 洗 3 次, 避光与山羊抗小鼠抗体或山羊抗兔抗体 (武汉三鹰公司) 偶联的二抗 (1:200) 孵育 1 h。随后, 将细胞与 DAPI (上海碧云天公司) 在黑暗中孵育 10 min。最后, 用抗荧光淬灭剂 (上海碧云天公司) 密封样品, 用正置荧光显微镜 (德国徕卡公司) 进行荧光成像。

1.6 qRT-PCR RNA 提取试剂盒 (湖南艾科瑞公司) 提取细胞 RNA, 紫外分光光度计检测 RNA 浓度, 置 -80 °C 保存备用。采用 SYBR Green 荧光染料试剂盒说明书配制反应体系 (上海碧云天公司), 在罗氏 LightCycler 480 实时荧光定量 PCR 系统中检测 DUSP1、MMP13、Collagen II 等的表达。以 β -actin 为内参对照, 取平均 CT 值 (扩增动力曲线拐点), 按 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 进行半定量分析, 计算目的基因相对表达量。

引物由通用生物设计合成, 引物序列见表 1。

1.7 Annexin V-PE/AAD 双染结合流式细胞仪检测细胞凋亡 将采用流式细胞仪结合 AnnexinV-PE/AAD 试剂盒 (上海酶联生物公司) 双标记染色, 测定细胞凋亡率。取对数生长期细胞, 按照 2×10^5 个/孔接种于 6 孔板, 经 IL-1 β 和 Cur 处理后, 胰酶消化收集细胞。按照试剂盒说明操作: 冷 PBS 洗涤细胞 2 次, 用 400 μ l Annexin V 结合液, 调整密度约 1×10^9 /L, 加入 5 μ l 的 AnnexinV-PE 染色液, 轻轻混匀, 2 ~ 8 °C 避光孵育 15 min, 然后加入 10 μ l 的 AAD 染色液, 轻轻混匀, 2 ~ 8 °C 避光孵育 5 min, 行流式细胞仪分析。

1.8 细胞转染与处理 通用生物设计和合成了针对 DUSP1 的 siRNA (siDUSP1)。根据制造商的说明, 使用 Lipo2000 (美国赛默飞公司) 将 siRNA 按照 50 nmol/L 的浓度转染 C28/I2 细胞。然后将细胞用于实验。

1.9 统计学处理 本研究中所有的检测至少 3 份样本。应用 GraphPad Prism 8.0 软件进行数据分析, 以 $P < 0.05$ 为界限, 进行 t 检验或单因素分析。连续变量显示为 $\bar{x} \pm s$ 。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Tab.1 qRT-PCR primer sequence

Gene	Primer sequence (5'-3')
Bax	Forward TGATGGACGGGTCCGGG
	Reverse CAAAAGGGCCCTGTCTTCA
Bcl-2	Forward AAAAATACAACATCACAGAGGAAGT
	Reverse TTCTGGTGTITCCCCCTTGG
MMP13	Forward CCAGTCTCTATGGTCCAGG
	Reverse AGGTCACATTTGTCTGGCC
DUSP1	Forward ACTCTACGATCAGGCTGGC
	Reverse ATCAAGGCAGTGATGCCAA
Collagen II	Forward CCGTTTCGCTGCGCTC
	Reverse GCCAGCCTCTGGACATC
IL-1 β	Forward TGCCACCTTTGACAGTGATG
	Reverse AAGGTCCACGGGAAAGACAC
β -actin	Forward CAGCCTTCCTTCTTGGGTATGG
	Reverse CGCAGCTCAGTAACAGTCCC

2 结果

2.1 Cur 显著抑制 IL-1 β 诱导的软骨细胞活力的下降并促进软骨细胞增殖 如图 1A 所示, 为了确定合适的细胞模型, 不同浓度 IL-1 β 刺激细胞后, CCK-8 法检测增殖情况, 细胞活力下降 ($F = 25.4$); 不同浓度的 Cur 作用于 IL-1 β (10 μ g/L) 处理后 C28/I2, CCK-8 法检测其增殖情况, IL-1 β 处理后细

胞活力明显下降 ($F = 33.6$), 添加不同浓度的 Cur 对这种活力抑制有显著减轻作用, 随着 Cur 浓度的增加, C28/I2 的细胞活力增加越来越明显 ($F = 16.99$)。如图 1B 细胞划痕实验所示, IL-1 β 处理组细胞增殖能力与对照组相比降低, Cur 治疗后细胞增殖能力增强。

2.2 Cur 缓解了 IL-1 β 诱导的 C28/I2 细胞的胶原流失并减轻细胞炎症水平 如图 2A Western blot 结果所示, 与 IL-1 β 处理组相比, Cur 治疗组降低了 MMP13、IL-1 β 的蛋白表达, 而增加了 Collagen II 的表达 ($F = 18.8$)。图 2B IL-1 β 蛋白免疫荧光结果所示, IL-1 β 诱导组炎症水平升高, Cur 则扭转了这种变化 ($F = 23.69$)。图 2C 为 IL-1 β 、Collagen II、MMP13 的 qRT-PCR 结果, 与 IL-1 β 处理组相比, Cur 治疗组降低了 MMP13、IL-1 β 的 mRNA 水平, 而增加了 Collagen II 的表达 ($F = 19.8$)。

2.3 Cur 减少了 IL-1 β 诱导的细胞凋亡 如图 3A 流式细胞仪检测结果所示, IL-1 β 诱导组细胞凋亡死亡明显增多, Cur 治疗组减少了细胞凋亡 ($F = 56.9$)。IL-1 β 诱导组 Bcl-2 的 RNA 和蛋白水平降低, Bax 水平升高, Cur 则增加了 Bcl-2 转录组和蛋白的表达, 降低了 Bax 转录组和蛋白的表达 ($F = 39.2$), 见图 3B、C。

2.4 Cur 对 DUSP1/p38 MAPK 通路的影响 如图 4A Western blot 结果所示, 与 IL-1 β 处理组相比, Cur 促进了 DUSP1 蛋白的表达; 抑制了 p38 蛋白的磷酸化, 从而抑制了 p38 MAPK 信号通路 ($F = 19.6$)。图 4B 显示, IL-1 β 处理后 DUSP1 表达明显减少, Cur 则增加 DUSP1 的表达 ($F = 26.88$)。图 4C 结果说明, 与 IL-1 β 处理组相比, Cur 增加了 DUSP1 的转录组表达 ($F = 17.89$)。图 4D 中, si-DUSP1 转染成功, 且 DUSP1 基因干扰组相比于对照

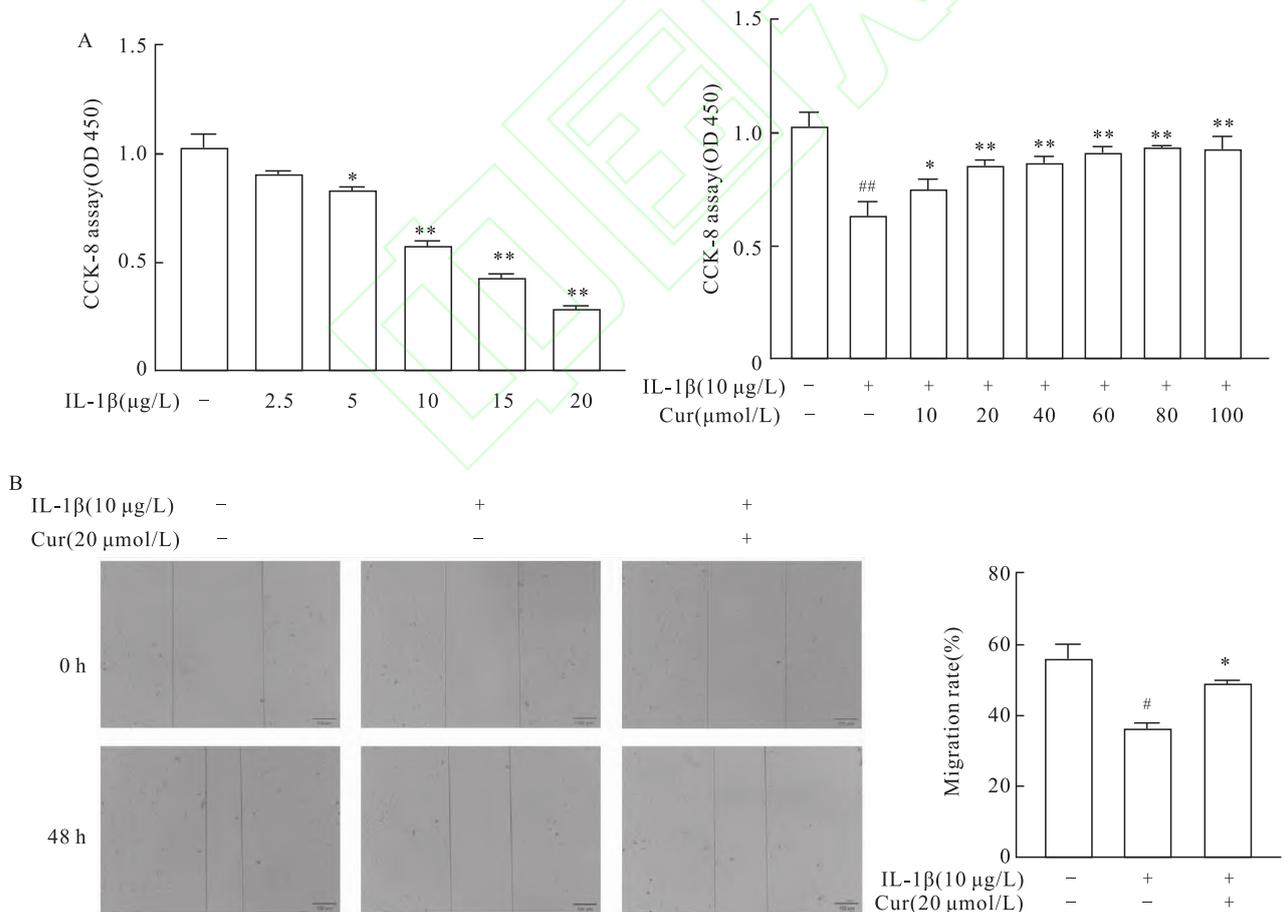


图 1 Cur 对软骨细胞活力和增殖的影响

Fig. 1 Effect of Cur on chondrocyte viability and proliferation

A: The effects of IL-1 β stimulation and Cur treatment on cell viability detected by CCK-8; B: Cell proliferation capacity detected by cell scratch assay $\times 40$; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs negative control group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs experimental control group.

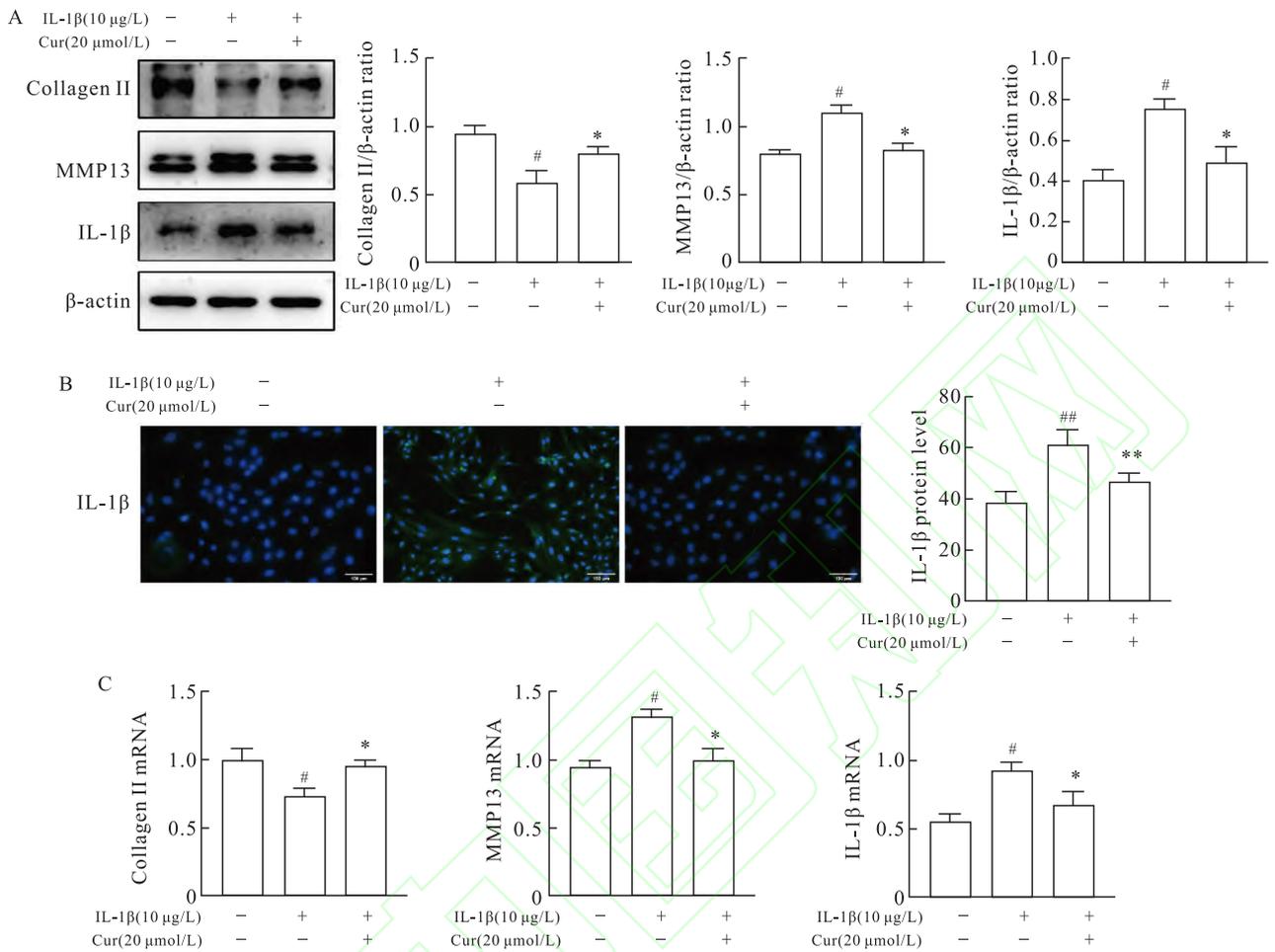


图2 Cur 处理对软骨细胞胶原和炎症水平的影响

Fig. 2 Effect of Cur treatment on chondrocyte collagen and inflammation levels

A: Western blot detection of Collagen II, MMP13, IL-1β and β-actin of each group, and semi-quantitative analysis; B: The protein expression level of IL-1β was detected by immunofluorescence ×200; C: The transcriptome expressions of IL-1β, Collagen II and MMP13 detected by qRT-PCR; #*P* < 0.05, ##*P* < 0.01 vs negative control group; **P* < 0.05, ***P* < 0.01 vs experimental control group.

组磷酸化 p38 蛋白表达明显增多 ($F = 23.7$)。

2.5 p38 MAPK 通路与软骨细胞损伤的关系 如图 5A Western blot 结果所示,在加入不同浓度的 SB 之后,软骨细胞内磷酸化的 p38 蛋白表达明显减少 ($F = 16.6$)。图 5B 中,IL-1β 处理后 DUSP1 表达明显减少、IL-1β 表达增加,而经过 SB 和 Cur 处理的组 IL-1β 表达明显减少;Cur 还增加 DUSP1 的表达,但 SB 对 DUSP1 的表达影响不大 ($F = 21.8$)。

3 讨论

Cur 是姜黄植物的活性成分,在过去的二十年里作为抗氧化剂、抗炎剂和抗癌剂受到了极大的关注^[7-8],而且它已被提出对许多疾病有益处,例如癌症、感染、慢性炎症性疾病和自身免疫性疾病^[9-10]。

作为一种有效的抗炎化合物,可激活多条分子通路发挥作用^[2, 11]。有研究^[12]表明 Cur 可以对膝关节 OA 症状产生有利影响。然而,Cur 对 OA 的作用及抑制关节炎的潜在机制尚未完全阐明。IL-1β 刺激可激活软骨细胞 p38 MAPK 信号通路^[13]。

基于以上背景调查,本课题组采用原代软骨细胞以及 C28/I2 细胞系进行体外实验,采用的 IL-1β (10 μg/L) 模拟 OA 病人体内环境诱导细胞损伤模型,在加入不同浓度 Cur 后,显著抑制 IL-1β 诱导的软骨细胞活力的下降,且治疗效果与 Cur 浓度成正比,细胞划痕实验也证明 Cur 能够增强软骨细胞活力,促进其增殖。流式细胞技术检测结果显示在 IL-1β 处理之后,细胞凋亡率明显增加,经 Cur 处理后凋亡减少;Western blot、细胞免疫荧光检测结果显

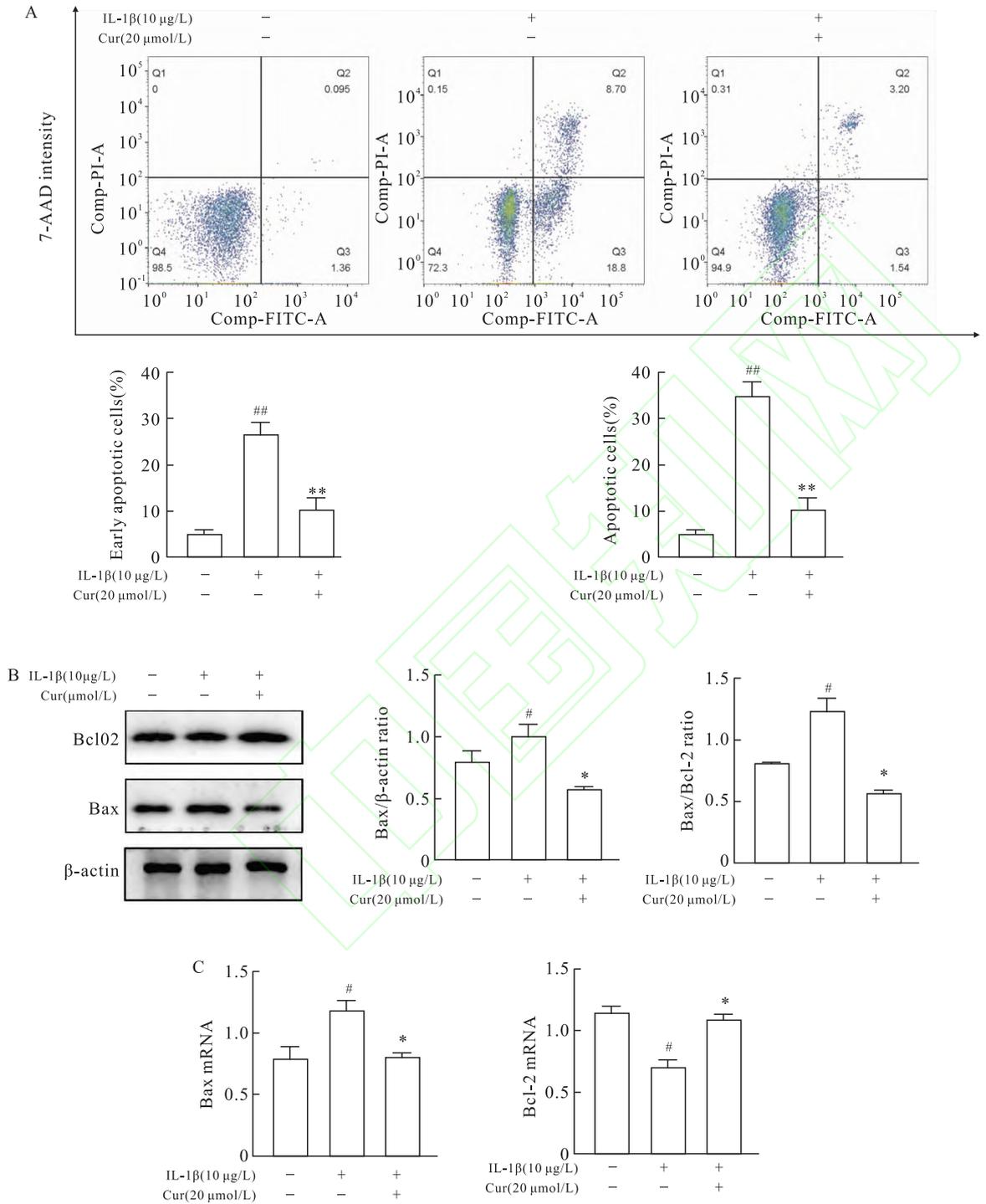


图3 Cur处理对软骨细胞凋亡的影响

Fig. 3 Effect of Cur treatment on chondrocyte apoptosis

A: Apoptosis of C28/I2 was detected by flow cytometry and Annexin V-PE/7-AAD staining, and the apoptotic cells were quantitatively analyzed; B: Western blot analysis was performed for Bcl-2, Bax and β-actin of each group, and semi-quantitative analysis was performed; C: The transcriptome expressions of Bcl-2 and Bax were detected by qRT-PCR; #*P* < 0.05, ##*P* < 0.01 vs negative control group. **P* < 0.05, ***P* < 0.01 vs experimental control group.

示, Cur 抑制了 IL-1β、Bax、MMP13、p-p38 等蛋白的表达, 而增加 Collagen II、Bcl-2、DUSP1 等蛋白的表

达; 表明 Cur 能有效降低软骨细胞凋亡与炎症水平, 减少软骨细胞的胶原流失, 并且能够抑制

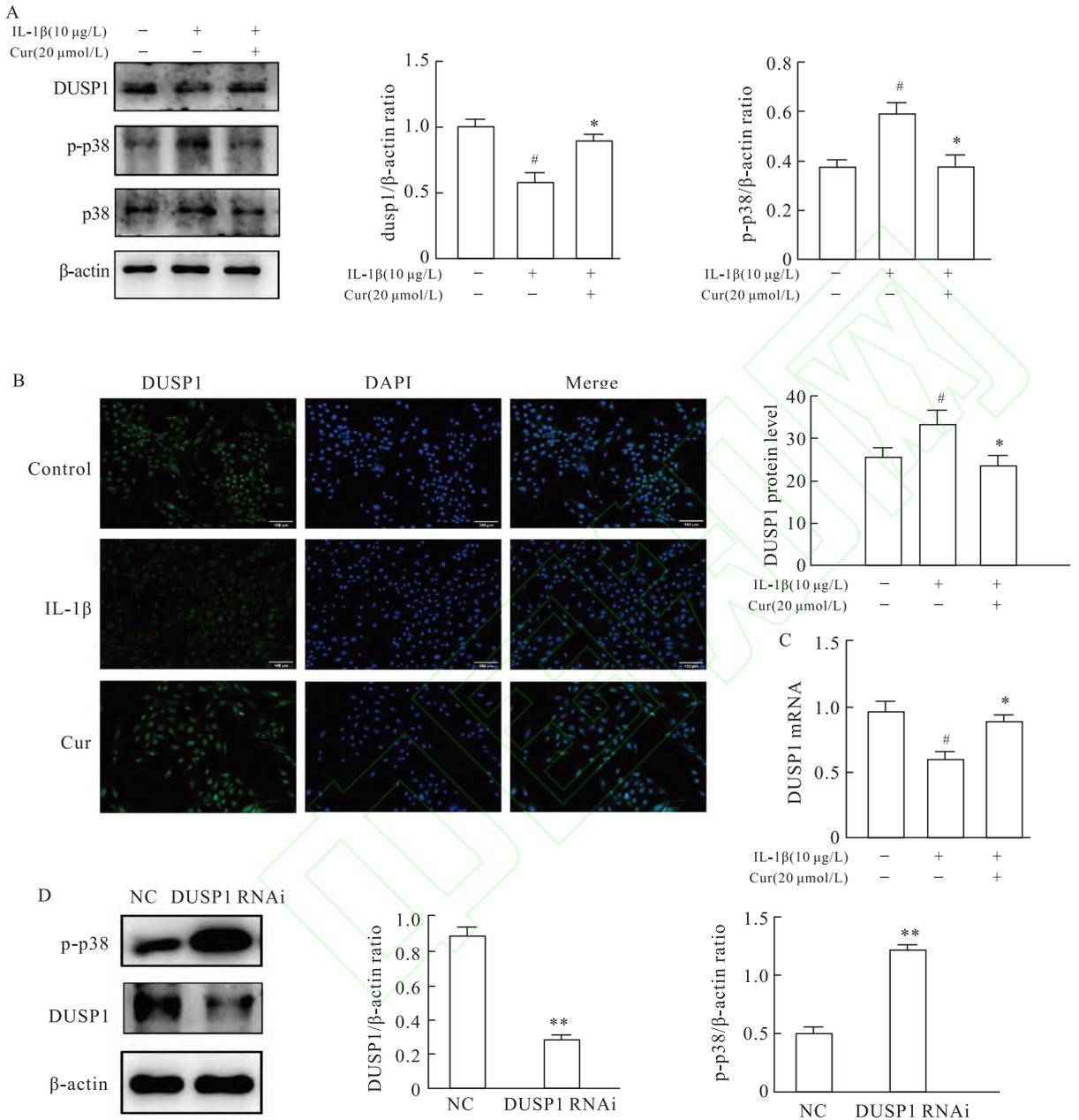


图4 Cur处理对p38 MAPK信号通路的影响

Fig.4 Influence of Cur processing on p38 MAPK signal path

A: Western blot was used to detect DUSP1, p-p38, p38 and β-actin in each group, and semi-quantitative analysis was performed; B: The protein level of IL-1β was detected by immunofluorescence ×200; C: The transcriptome expression of DUSP1 was detected by qRT-PCR; D: Western blot detection of DUSP1, p-p38 and β-actin in each group, and semi-quantitative analysis; #P < 0.05, ##P < 0.01 vs negative control group. *P < 0.05, **P < 0.01 vs experimental control group.

p38 MAPK 通路的激活。采用 siDUSP1 沉默 DUSP1 与 SB 阻断 p38 MAPK 信号转导, 进一步探明 DUSP1/p38 MAPK 通路与软骨细胞损伤的关系, Western blot 结果显示, IL-1β 和干扰 RNA 沉默 DUSP1 激活了 p38 MAPK 通路, Cur 则抑制了 p38 MAPK 通路的激活, SB 处理组细胞炎症水平也有所

下降。

综上所述, 本研究通过体外实验探明 Cur 可通过促进 DUSP1 的表达, 抑制 p38 MAPK 通路的激活, 从而有效降低 IL-1β 诱导的软骨细胞的凋亡和炎症水平。为 OA 的形成机制和药物设计提供新靶点, 或成为针对 OA 的一种潜在的治疗方法。

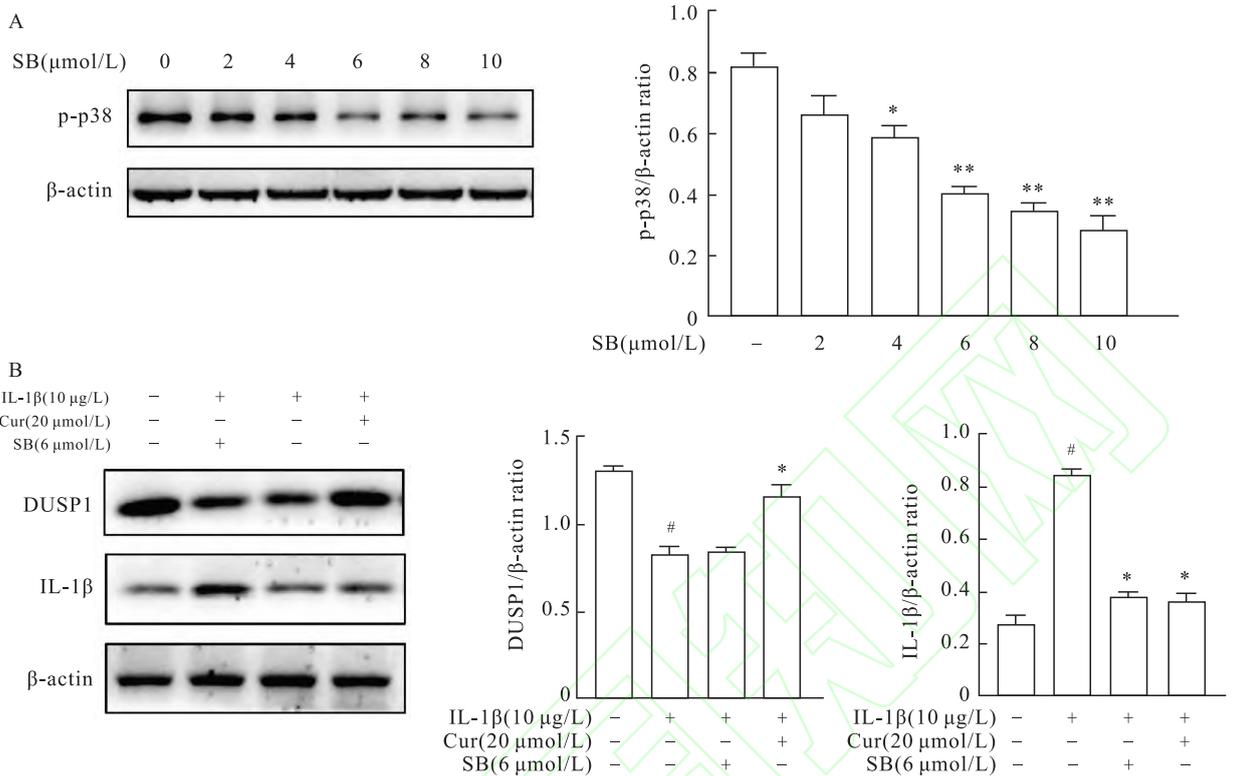


图5 p38 MAPK 信号通路与细胞损伤的关系

Fig. 5 Relationship between p38 MAPK signaling pathway and cell damage

A: Western blot was used to detect p-p38 and β-actin in each group, and semi-quantitative analysis was performed; B: Western blot was used to detect DUSP1, IL-1β and β-actin in each group, and semi-quantitative analysis was performed; #P < 0.05, ##P < 0.01 vs negative control group. *P < 0.05, **P < 0.01 vs experimental control group.

参考文献

[1] Katz J N, Arant K R, Loeser R F. Diagnosis and treatment of hip and knee osteoarthritis: A review [J]. JAMA, 2021, 325 (6): 568 – 78. doi: 10.1001/jama.2020.22171.

[2] Sadeghi M, Dehnavi S, Asadirad A, et al. Curcumin and chemokines: mechanism of action and therapeutic potential in inflammatory diseases [J]. Inflammopharmacology, 2023, 31 (3): 1069 – 93. doi: 10.1007/s10787 – 023 – 01136 – w.

[3] Fu Y S, Chen T H, Weng L, et al. Pharmacological properties and underlying mechanisms of curcumin and prospects in medicinal potential [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 141: 111888. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111888.

[4] Zeng L, Yang T, Yang K, et al. Efficacy and safety of curcumin and curcuma longa extract in the treatment of arthritis: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trial [J]. Front Immunol, 2022, 13: 891822. doi: 10.3389/fimmu.2022.891822.

[5] Cheng Y, Sun F, Wang L, et al. Virus-induced p38 MAPK activation facilitates viral infection [J]. Theranostics, 2020, 10 (26): 12223 – 40. doi: 10.7150/tno.50992.

[6] Sharif-Askari F S, Saheb Sharif-Askari N S, Goel S, et al. SARS-CoV-2 attenuates corticosteroid sensitivity by suppressing DUSP1 expression and activating p38 MAPK pathway [J]. Eur J Pharmacol, 2021, 908: 174374. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174374.

[7] Tomeh M A, Hadianamrei R, Zhao X. A review of curcumin and its derivatives as anticancer agents [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20 (5): 1033. doi: 10.3390/ijms20051033.

[8] Chainoglou E, Hadjipavlou-Litina D. Curcumin in health and diseases: Alzheimer’s disease and curcumin analogues, derivatives, and hybrids [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21 (6): 1975. doi: 10.3390/ijms21061975.

[9] Zia A, Farkhondeh T, Pourbagher-Shahri A M, et al. The role of curcumin in aging and senescence: molecular mechanisms [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 134: 111119. doi: 10.1016/j.biopha.2020.111119.

[10] Abd El-Hack M E, El-Saadony M T, Swelum A A, et al. Curcumin, the active substance of turmeric: its effects on health and ways to improve its bioavailability [J]. J Sci Food Agric, 2021, 101 (14): 5747 – 62. doi: 10.1002/jsfa.11372.

[11] Pourbagher-Shahri A M, Farkhondeh T, Ashrafzadeh M, et al. Curcumin and cardiovascular diseases: Focus on cellular targets and cascades [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 136: 111214. doi: 10.1016/j.biopha.2020.111214.

[12] Mathieu S, Soubrier M, Peirs C, et al. A meta-analysis of the im-

effect of nutritional supplementation on osteoarthritis symptoms [J].

Nutrients, 2022, 14(8): 1607. doi: 10.3390/nu14081607.

[13] Wang X, Guo Z, Lin J, et al. Indirubin protects chondrocytes and

alleviates OA by inhibiting the MAPK and NF- κ B pathways [J].

Int Immunopharmacol, 2023, 115: 109624. doi: 10.1016/j.in-

imp.2022.109624.

Curcumin attenuates IL-1 β -induced chondrocyte damage by modulating the DUSP1/p38 MAPK pathway

Song Fei^{1,2}, Fan Xuefei³, Liu Nannan³, Chen Suhuan³, Jiang Min²,
Chen Guangyi⁴, Chen Wuqi⁴, Chen Xiaoyu³, Zhou Jian¹

(¹Dept of Orthopaedics, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022;

²Dept of Orthopaedics, No. 901 Hospital, PLA, Hefei 230031; ³Dept of Histology and Embryology,

⁴Dept of Clinical Medicine, Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the inhibitory effect of curcumin (Cur) on IL-1 β -induced cartilage damage and to study the relationship between the regulatory mechanisms of the DUSP1/p38 MAPK signalling pathway in the above process. **Methods** Chondrocytes (C28/I2) and postoperative primary chondrocytes from osteoarthritis patients were divided into control and experimental groups, and the experimental group was treated with different concentrations of Cur (0, 10, 20, 40, 60, 80 μ mol/L) after applying the inflammatory induction treatment with IL-1 β (10 μ g/L). The cell proliferation inhibition rate was determined by cell viability assay (CCK-8), the apoptosis rate was detected by flow cytometry assay. Real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR), Western blot, and immunofluorescence assay were used to detect type II collagen α 1 chain (Collagen II), matrix metalloproteinase 13 (MMP13), interleukin-1 β (IL-1 β), BCL2-related X protein (Bax), B lymphocytoma-2 (Bcl-2), dual-specificity phosphatase 1 (DUSP1), p38 mitogen-activated protein kinase (p38), and phosphorylated p38 mitogen-activated protein kinase (p-p38) RNA and protein expression levels. The role of the DUSP1/p38 MAPK axis in the inhibition of chondrocyte oxidative stress, apoptosis and inflammation by Cur was further validated using DUSP1 interfering RNA and p38 MAPK pathway inhibitor (SB). **Results** Cur significantly inhibited the IL-1 β -induced decrease in chondrocyte viability and significantly reduced the levels of oxidative stress, apoptosis, and inflammation in chondrocytes; Cur inhibited the expression of MMP13, IL-1 β , Bax, and p-p38 proteins, while the expression of Collagen II, Bcl-2, and DUSP1 proteins significantly increased; IL-1 β and interfering RNA silencing DUSP1 activated the p38 pathway, while Cur inhibited the activation of the p38 pathway; the use of p38 MAPK pathway inhibitors reduced cellular inflammation. **Conclusion** Cur attenuates IL-1 β -induced oxidative stress, apoptosis and inflammation in chondrocytes by promoting the expression of DUSP1 protein and inhibiting the activation of p38 MAPK pathway.

Key words curcumin; osteoarthritis; cartilage; DUSP1; p38 MAPK

Fund programs National Natural Science Foundation of China (No. 81373421); 'Early Exposure to Research' Training Programme for Clinical Medicine ('5 + 3' Integration) at Anhui Medical University (Nos. 2022 - ZQKY - 19, 2023 - ZQKY - 093)

Corresponding authors Chen Xiaoyu, E-mail: cxyayd@163.com; Zhou Jian, E-mail: zhoujian831207@163.com