

网络出版时间: 2022-7-28 16:02 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20220727.1756.013.html>

# iPSC-MSCs 体外对骨关节炎患者关节软骨组织的基质保护作用

袁晓阳 程 刚 吴玉娇 张 峰 徐 靛 魏 伟 严尚学

**摘要** 目的 研究多能诱导干细胞来源的间充质干细胞(iPSC-MSCs)体外对膝骨关节炎(KOA)患者关节软骨组织的基质保护作用及部分机制。方法 经知情同意,收集KOA患者关节软骨,剪碎处理后加入IL-1 $\beta$ (10 ng/ml)刺激96 h,再分别加入不同数量的iPSC-MSCs( $1 \times 10^5$ 、 $1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^7$ )细胞,在37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱内培养3 d。另设IL-1 $\beta$ (10 ng/ml)诱导组和培养液对照组。硫酸软骨素含量测定法检测软骨组织中糖胺聚糖含量,免疫组化法检测组织中I型胶原、II型胶原表达,ELISA法检测共培养上清液中MMP13、IL-6、IL-10水平,HE染色检测离体软骨组织的病理改变。结果 与对照组比较,IL-1 $\beta$ 可诱导KOA软骨组织中软骨细胞肿胀死亡,炎性细胞比例升高,I型胶原水平升高、II型胶原水平降低,培养上清液中MMP-13、IL-6水平升高( $P < 0.01$ ),IL-10和糖胺聚糖含量减少( $P < 0.01$ );与IL-1 $\beta$ 诱导组比较,iPSC-MSCs不同细胞数共培养可降低上清液中MMP-13、IL-6水平和I型胶原水平,促进II型胶原表达,升高软骨组织中糖胺聚糖含量和IL-10水平。结论 iPSC-MSCs体外可调节炎症因子水平,抑制软骨细胞基质降解,对关节软骨组织具有保护作用。

**关键词** iPSC-MSCs; 骨关节炎; 基质保护

中图分类号 R 684.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2022)08-1247-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.08.013

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种最常见的关节疾病,关节软骨进行性退化和丧失,伴随整个关节的结构和功能改变,包括滑膜、半月板(在膝部)、关节周围韧带和软骨下骨<sup>[1]</sup>等,临床表现为缓慢发展的关节疼痛、压痛、僵硬、关节肿胀、活动受限和关

节畸形等。现有临床治疗药物如非甾体抗炎药、注射用玻璃酸钠、度洛西汀等,只能减轻局部肿胀、疼痛等症状,不能有效改善关节软骨损伤,针对OA的治疗仍然以对症治疗或施行关节置换手术为主<sup>[2]</sup>。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)治疗OA的临床试验研究中,大多数试验处于I/II期安全性和有效性研究阶段<sup>[3]</sup>。因此,MSCs用于治疗OA的安全性、有效性及其作用机制仍有待探索。

诱导多能干细胞是由成体细胞经转录因子(Oct4、Sox2、Klf4和c-Myc)导入重编程而来的细胞,不但具备自我更新和多向分化潜能,还克服了胚胎干细胞存在的伦理和免疫原性等问题。课题组前期研究<sup>[4]</sup>显示,诱导多能干细胞来源的间充质干细胞(iPSC-MSC)可改善OA大鼠关节病理,具有软骨保护作用。为进一步研究iPSC-MSC对软骨组织的作用及其机制,该研究以膝关节OA手术患者的软骨组织样本为对象,观察iPSC-MSCs体外对炎症因子释放、软骨基质保护的作用,探讨iPSC-MSCs防治关节软骨退变的可能机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 样本来源** 经患者知情同意,收集安徽医科大学第一附属医院收治的膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)人工关节置换手术的关节软骨组织。OA患者纳入标准:①符合中华医学会骨科学分会制定的《骨关节炎诊治指南(2007年版)》诊断标准;②保守治疗无效需接受膝关节置换术;③意识清楚,签署知情同意书。OA患者排除标准:①近1个月内使用关节腔注射患者;②合并严重心脑血管疾病、肝肾功能不全或免疫系统疾病者;③有膝关节化脓性感染、手术史者。

**1.1.2 细胞与试剂** iPSC-MSCs(批号:202104001)由安徽中盛溯源生物科技有限公司提供,实验前均经表型鉴定、计数和活力检查。白细胞介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ (SRP3083)购自美国Sigma公司;Human IL-6 ELISA试剂盒(Cat: #m1058097-J)、Human IL-

2022-04-25 接收

基金项目:安徽高校自然科学研究重大项目(编号:KJ2020ZD15)

作者单位:安徽医科大学临床药理研究所,抗炎免疫药物教育部重点实验室,抗炎免疫药物安徽省协同创新中心,合肥230032

作者简介:袁晓阳,男,硕士研究生;

魏伟,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: wwei@ahmu.edu.cn;

严尚学,男,副研究员,硕士生导师,责任作者,E-mail: yan-shx@163.com

10 ELISA 试剂盒 (Cat: #m1064299-J)、Human MMP-13 ELISA 试剂盒 (Cat: #m1026259-J) 为上海酶联生物科技有限公司产品; Rabbit Anti-Collagen I (abs120555)、Mouse anti-Collagen II (NB600-844) 购自美国 Abcam 公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 样本处理** 无菌环境下将 KOA 手术病人捐献的关节软骨组织剪成直径约 6 mm, 厚 1 mm 的组织块, 置于含 10% 胎牛血清 DMEM 培养液的 24 孔板中, 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养 48 h。

**1.2.2 分组及给药** 将处理好的软骨组织块作为实验对象, 分为对照组、IL-1β 诱导组、iPSC-MSCs (1×10<sup>5</sup>、1×10<sup>6</sup>、1×10<sup>7</sup>) 细胞共培养组。除对照组外, 各组加入 IL-1β (终浓度 10 ng/ml) 培养 96 h, 再向 iPSC-MSCs 各组加入相应数量细胞, 对照组和 IL-1β 诱导组加入等体积细胞培养液, 每组设 3 个复孔, 37℃、5% CO<sub>2</sub> 继续培养 72 h, 培养完成后, 分别收集软骨组织块和培养上清液, 培养上清液置于 -80℃ 冰箱待测; 软骨组织块一半用于糖胺聚糖 (glycosaminoglycans, GAG) 检测, 另一半置 10% 福尔马林固定, 用于病理组织学检查。

**1.2.3 ELISA 法检测软骨组织体外培养上清液 MMP-13、IL-6、IL-10 水平** 将培养上清液解冻后, 3 000 r/min 离心 20 min, 取上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明书操作检测各因子水平。

**1.2.4 病理学检测** 取经 10% 福尔马林室温固定的软骨组织, 脱钙后, 石蜡纵向包埋、切片后进行 HE 染色, 镜下观察组织病理学改变。

**1.2.5 免疫组织化学方法检测 I 型胶原、II 型胶原在软骨组织样本中的表达水平** 样本经处理后, 脱钙包埋切片, 分别用乙二胺四乙酸 (EDTA) 抗原修复液和 3% 过氧化氢进行抗原修复并阻断内源性过氧化物的干扰, 一抗 4℃ 孵育过夜, 第二天室温复温后磷酸缓冲盐溶液 (PBS) 洗涤后, 加二抗室温孵育 20 min, 经染色封片后在显微镜下观察。

**1.2.6 软骨组织糖胺聚糖 (glycosaminoglycan, GAG)**

水平检测 采用 DMMB (1,9-二甲基二亚基蓝) 法。取另一半组织培养块后立即测定其湿重。60℃ 干燥 3 d 后测定其干重。将样本放入 1 ml PBS 缓冲液中浸泡过夜。加入 10 μl 番木瓜酶液, 60℃ 孵育 6 h。在 96 孔培养板中加入 10 μl 标准品及 10 μl 样本溶液, 再加入 20 μl DMMB 溶液。1 min 后, 以 PBS 作为空白对照调零, 用酶标仪 (Infinite M1000 Pro 全波长多功能酶标仪, 瑞士 Tecan 公司) 在 690 nm 处测定各样品孔的吸光度 (A), 从硫酸软骨素标准曲线上查出待测样品的浓度, 结果以硫酸软骨素 (μg/mg) 软骨干重表示。

**1.3 统计学处理** 使用 GraphPad (6.0 版) 进行统计分析。数值结果以  $\bar{x} \pm s$  表示。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 iPSC-MSCs 体外对 OA 患者关节软骨组织病理的影响** 显微镜下检查可见, 对照组软骨组织无异常分化细胞, 软骨细胞分布较均匀, 大小和形态一致; IL-1β 诱导组软骨组织出现大量软骨细胞肿胀形变、核皱缩、破裂死亡, 伴有炎性细胞浸润; iPSC-MSCs (1×10<sup>6</sup>、1×10<sup>7</sup>) 细胞共培养可抑制 IL-1β 诱导的软骨组织细胞病变 (图 1)。

**2.2 iPSC-MSCs 体外对 OA 患者关节软骨组织 I 型胶原、II 型胶原表达的影响** 免疫组化法检测软骨组织中 I 型胶原和 II 型胶原表达水平, 结果显示, IL-1β 可诱导软骨组织 I 型胶原水平表达升高, iPSC-MSCs (1×10<sup>6</sup>、1×10<sup>7</sup>) 细胞与软骨组织共培养, 可降低 IL-1β 诱导的 I 型胶原表达水平 (图 2)。同时, IL-1β 可降低软骨组织中 II 型胶原含量, iPSC-MSCs (1×10<sup>6</sup>、1×10<sup>7</sup>) 与软骨组织共培养, 可升高软骨组织中 II 型胶原表达水平 (图 3)。

**2.3 iPSC-MSCs 体外对 OA 患者关节软骨组织 GAG 水平的影响** 表 1 结果显示, 与对照组比较, IL-1β 诱导组软骨组织 GAG 含量降低 (P < 0.05), iPSC-MSCs (1×10<sup>5</sup>、1×10<sup>6</sup>、1×10<sup>7</sup>) 细胞体外共培

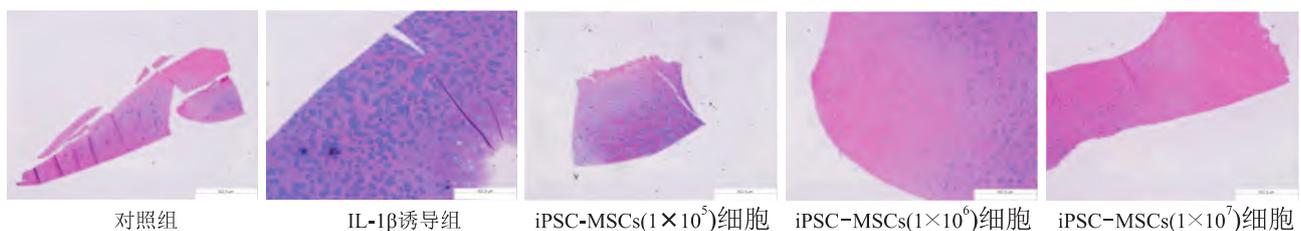


图 1 iPSC-MSCs 体外对 OA 患者关节软骨组织病理的影响 ×50

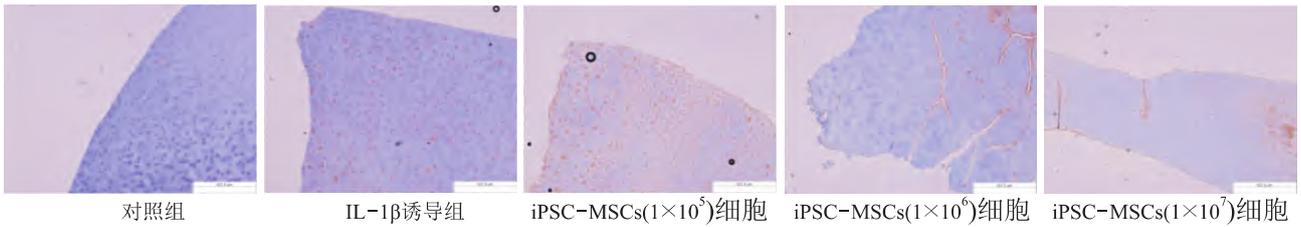


图 2 iPSC-MSCs 体外对 OA 患者关节软骨组织 I 型胶原表达的影响 ×50

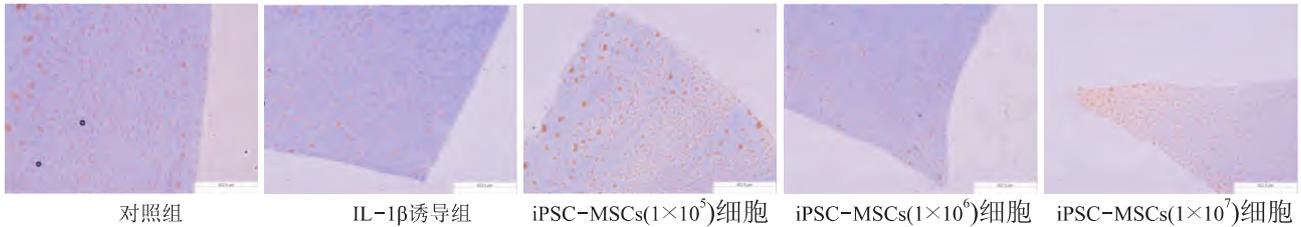


图 3 iPSC-MSCs 体外对 OA 患者关节软骨组织 II 型胶原表达的影响 ×50

表 1 iPSC-MSCs 体外对 OA 患者关节软骨组织 GAG 水平的影响 (n=3  $\bar{x}\pm s$ )

组别	GAG( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )
对照	24.05±2.26
IL-1 $\beta$ 诱导	10.34±0.69**
iPSC-MSCs( 1×10 <sup>5</sup> )	12.28±0.96
iPSC-MSCs( 1×10 <sup>6</sup> )	15.22±1.47 <sup>##</sup>
iPSC-MSCs( 1×10 <sup>7</sup> )	18.04±1.56 <sup>##</sup>

与对照组比较: \*\* P<0.01; 与 IL-1 $\beta$  诱导组比较: <sup>##</sup> P<0.01

养均可升高软骨组织 GAG 水平( P<0.05)。

**2.4 iPSC-MSCs 体外对 OA 患者关节软骨组织 MMP-13、IL-6 和 IL-10 分泌水平的影响** 检测 iP-SC-MSCs 与 OA 患者软骨组织的共培养上清液,结果显示(表 2),与对照组比较,IL-1 $\beta$  诱导组培养上清液中 MMP-13、IL-6 水平升高( P<0.01),IL-10 水平下降( P<0.01);与 IL-1 $\beta$  诱导组比较,iPSC-MSCs ( 1×10<sup>5</sup>、1×10<sup>6</sup>、1×10<sup>7</sup>) 细胞共培养可不同程度地降低培养上清液中 MMP-13、IL-6 水平,升高 IL-10 水平。

表 2 iPSC-MSCs 体外对 OA 患者关节软骨组织 MMP-13、IL-6 和 IL-10 分泌水平的影响 (n=3  $\bar{x}\pm s$ )

组别	MMP-13( ng/ml)	IL-6( pg/ml)	IL-10( pg/ml)
对照	104.44±2.09	1.45±0.08	286.00±3.65
IL-1 $\beta$ 诱导	120.10±0.80**	93.87±4.57**	251.90±10.10**
iPSC-MSCs( 1×10 <sup>5</sup> )	104.90±5.83 <sup>##</sup>	88.11±7.52	297.86±9.80 <sup>##</sup>
iPSC-MSCs( 1×10 <sup>6</sup> )	103.76±3.82 <sup>##</sup>	54.33±1.20 <sup>##</sup>	326.12±5.64 <sup>##</sup>
iPSC-MSCs( 1×10 <sup>7</sup> )	108.31±0.41 <sup>##</sup>	33.44±5.70 <sup>##</sup>	293.47±17.04 <sup>##</sup>

与对照组比较: \*\* P<0.01; 与 IL-1 $\beta$  诱导组比较: <sup>#</sup> P<0.05, <sup>##</sup> P<0.01

### 3 讨论

OA 作为临床常见的慢性炎症性疾病,主要临

床症状包括慢性疼痛、关节不稳定、僵硬、关节畸形和放射学关节间隙变窄<sup>[5]</sup>。关节软骨主要由组织液、胶原(主要是 II 型胶原)、蛋白聚糖和软骨细胞组成。关节软骨的退行性变化的标志是蛋白多糖含量减少和水含量增加<sup>[6]</sup>,由于关节软骨缺乏血液供应,而且软骨细胞是高度分化的细胞,增殖和迁移能力差<sup>[7-8]</sup>,因此运用干细胞治疗 OA 的疗法最近几年有了很大的发展,如骨髓来源间充质干细胞、脂肪来源间充质干细胞在治疗 OA 患者中起到了抗炎和软骨保护作用<sup>[9-10]</sup>。然而,干细胞治疗仍有许多缺点需要克服,包括肿瘤形成的风险、伦理问题和移植排斥等。iPSCs 与胚胎干细胞相似,由患者特异性成体细胞经诱导产生,具有在形态、自我更新和分化能力方面的优势<sup>[11]</sup>。已有研究<sup>[12]</sup>指出,iPSC-MSCs 可以有效抑制 OA 兔软骨中炎症因子 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  蛋白表达,通过单层培养使用 iPSC-MSCs 衍生的软骨细胞,可以修复有缺陷的软骨。课题组前期研究<sup>[4]</sup>显示通过关节腔内注射 iPSC-MSCs 可以改善 OA 大鼠关节病理,具有的软骨保护作用但对软骨基质的保护作用机制尚未明确。

已有文献<sup>[13]</sup>表明,在 OA 患者和动物模型中 IL-6、IL-10 的水平分别提高和下降,IL-6 可以放大炎症反应,加重软骨组织损伤,IL-10 诱导的 2 型巨噬细胞亚型在组织重塑中起到作用。本研究观察了不同细胞数量 iPSC-MSCs 体外对 KOA 患者关节软骨组织炎症因子水平的影响,结果表明,iPSC-MSCs 共培养可降低促炎因子 IL-6 水平,升高抗炎因子 IL-10 水平。因此,iPSC-MSC 可通过抑制 IL-6 产生、促进 IL-10 分泌,减轻关节软骨局部炎症,从而

改善 OA 患者软骨组织损伤。

细胞外软骨基质( extracellular Cartilage Matrix , ECM) 合成和分解代谢是影响 OA 发生发展的一个重要影响因素。OA 早期和晚期的滑膜炎与软骨的改变有关, 发炎的滑膜产生分解代谢和促炎因子, 导致产生多余的蛋白水解酶, 最终导致软骨分解。其中 MMP-13 是软骨退行性变化的关键酶, 具有强大的基质分解作用, 可降解多种胶原, 参与结缔组织的重构, 它被认为是 OA 发病过程中发生的退行性过程的主要促成因素。OA 发生时, 软骨组织 I 型胶原水平升高, II 型胶原水平下降。本研究进一步观察了 iPSC-MSCs 对 OA 患者软骨组织 ECM 合成与降解蛋白表达的影响, 结果表明 iPSC-MSCs 可以上调 ECM 中 II 型胶原蛋白表达; 下调 I 型胶原蛋白表达, 维持软骨基本结构。GAG 含量与软骨生物力学特性存在高度相关性, 已有研究<sup>[14]</sup> 表明 GAG 含量的降低会影响软骨的刚度和黏弹性, 会导致更多的关节软骨损伤。本研究结果表明, iPSC-MSCs 与关节软骨组织共培养, 与 IL-1 $\beta$  诱导组降低 GAG 水平相比, iPSC-MSCs(  $1 \times 10^5$ 、 $1 \times 10^6$ 、 $1 \times 10^7$  ) 细胞可升高软骨组织 GAG 水平, 促进软骨基质的合成。目前以 MSC 移植作为 OA 的临床治疗仍然还处于起步阶段, MSC 的不同种类、作用效果、作用机制以及安全性等还不是非常明确。iPSC 来源的 MSCs 具有来源简单、细胞质量可控、不涉及伦理学问题等优势, 是如今研究的热点。本实验主要观察 iPSC-MSCs 与 OA 患者软骨组织共培养对炎症导致软骨基质降解保护作用的机制, 证实 iPSC-MSCs 抑制炎症因子释放, 促进抗炎因子合成, 抑制 ECM 降解。

#### 参考文献

- [1] Glyn-Jones S, Palmer A J, Agricola R, et al. Osteoarthritis [J]. *Lancet*, 2015, 386( 9991 ): 376-87.  
[2] Mobasher A, Batt M. An update on the pathophysiology of osteo-

- arthritis [J]. *Ann Phys Rehabil Med*, 2016, 59( 5-6 ): 333-9.  
[3] Matas J, Orrego M, Amenabar D. Umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells ( MSCs) for knee osteoarthritis: repeated MSC dosing is superior to a single MSC dose and to hyaluronic acid in a controlled randomized phase I / II trial [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2019, 8( 3 ): 215-24.  
[4] 何继晨, 严君逸, 程琢玉, 等. 诱导多能干细胞来源间充质干细胞对大鼠骨关节炎的治疗作用 [J]. *安徽医药*, 2019, 23( 8 ): 1496-500, 1697-8.  
[5] Xia B, Chen D, Zhang J, et al. Osteoarthritis pathogenesis: a review of molecular mechanisms [J]. *Calcif Tissue Int*, 2014, 95( 6 ): 495-505.  
[6] Qiao Z, Xin M, Wang L. Proteoglycan 4 predicts tribological properties of repaired cartilage tissue [J]. *Theranostics*, 2020, 10( 6 ): 2538-52.  
[7] Zhou Q, Xu C, Cheng X, et al. Platelets promote cartilage repair and chondrocyte proliferation *via* ADP in a rodent model of osteoarthritis [J]. *Platelets*, 2016, 27( 3 ): 212-22.  
[8] Tseng C C, Chen Y J, Chang W A. Dual role of chondrocytes in rheumatoid arthritis: the chicken and the egg [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21( 3 ): 1071.  
[9] Cosenza S, Ruiz M, Toupet K, et al. Mesenchymal stem cells derived exosomes and microparticles protect cartilage and bone from degradation in osteoarthritis [J]. *Sci Rep*, 2017, 7( 1 ): 16214.  
[10] Richardson S M, Kalamegam G, Pushparaj P N, et al. Mesenchymal stem cells in regenerative medicine: Focus on articular cartilage and intervertebral disc regeneration [J]. *Methods*, 2016, 99: 69-80.  
[11] Zhu Y, Wang Y, Zhao B, et al. Comparison of exosomes secreted by induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells and synovial membrane-derived mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8( 1 ): 64.  
[12] Chang Y H, Wu K C, Ding D C. Induced pluripotent stem cell-differentiated chondrocytes repair cartilage defect in a rabbit osteoarthritis model [J]. *Stem Cells Int*, 2020, 2020: 8867349.  
[13] Fernandes T L, Gomoll A H, Lattermann C, et al. Macrophage: A potential target on cartilage regeneration [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 111.  
[14] Naveen S V, Ahmad R E, Hui W J, et al. Histology, glycosaminoglycan level and cartilage stiffness in monoiodoacetate-induced osteoarthritis: comparative analysis with anterior cruciate ligament transection in rat model and human osteoarthritis [J]. *Int J Med Sci*, 2013, 11( 1 ): 97-105.

## Matrix protective effect of iPSC-MSCs on articular cartilage tissue of patients with osteoarthritis *in vitro*

Yuan Xiaoyang, Cheng Gang, Wu Yujiao, Zhang Feng, Xu Liang, Wei Wei, Yan Shangxue  
( *Institute of Clinical Pharmacology, Anhui Medical University, Key Laboratory of Anti-inflammatory and Immune Medicine, Ministry of Education, Anhui Collaborative Innovation Center for Anti-inflammatory and Immune Drugs Hefei 230032* )

**Abstract Objective** To study the protective effect of mesenchymal stem cells ( iPSC-MSCs) derived from pluripotent induced stem cells on the articular cartilage tissue of patients with knee osteoarthritis ( KOA) *in vitro* and its

网络出版时间: 2022-7-28 15:47 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20220727.1756.014.html>

## miR-146a 通过调节 IRAK1 影响急性胰腺炎炎症自噬机制的研究

郑传明 纪 忠 徐志鹏 杜召辉 窦贺贺 姜 海 王振杰

**摘要** 目的 探究 miR-146a 在急性胰腺炎中的作用及机制。方法 用牛磺石胆酸 3 磷酸盐 (TLCs) 刺激 AR42J 细胞构建胰腺炎体外细胞模型, qPCR 及 ELISA 法检测细胞 miR-146a、白细胞介素 1 受体相关激酶 1 (IRAK1) 以及炎症因子白细胞介素 6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 的表达变化, Western blot 检测自噬相关分子 LC3 和 p62 的表达; 分别过表达 miR-146a 和 IRAK1 检测 IL-6、TNF- $\alpha$ 、LC3 和 p62 等分子的表达变化; 设计 IRAK1 3' UTR 与 miR-146a 结合位点突变质粒, 通过荧光素酶报告基因实验探究 miR-146a 是否可以直接靶向 IRAK1。结果 TLCs 可以浓度依赖性地抑制 miR-146a 和诱导 IRAK1 表达, 并可促进 IL-6、TNF- $\alpha$ 、LC3 和抑制 p62 的表达。过表达 miR-146a 可在一定程度上阻断 TLCs 的作用; 荧光素酶报告基因结果显示, miR-146a 直接靶向并负性调控 IRAK1 分子。结论 miR-146a 通过靶向

IRAK1 抑制 TLCs 诱导的 AR42J 细胞炎症及自噬的发生。

**关键词** miR-146a; IRAK1; 急性胰腺炎; 自噬

**中图分类号** R 576

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2022)08-1251-06

**doi:** 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.08.014

急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 是一种常见的急腹症, 其发病率和病死率都很高, 目前对其发病机制知之甚少, 也没有特异性或有效的治疗方法<sup>[1-2]</sup>。多项研究<sup>[3-4]</sup>表明, AP 的发病机制与自噬失调和持续的炎症密切相关。中文名小 RNA (mi-croRNA, miRNA) 是长度为 18~25 nt 的单链非编码小分子 RNA, 近年来其在 AP 中的作用受到了广泛关注。相关研究<sup>[5-7]</sup>表明, miR-146a 在炎症和先天性免疫应答中起着重要的调节作用, 且有个别报道<sup>[8]</sup>显示 miR-146a 有作为 AP 预后标志物的潜力, 但其在 AP 中的具体作用机制尚未见研究。该研究利用牛磺石胆酸 3 磷酸盐 (taurolicholic acid 3-sulphate, TLCs) 处理 AR42J 细胞建立 AP 模型, 探究 miR-146a 在 AP 中的作用及机制, 为 AP 的机制研究提供新思路, 更为 AP 精准诊疗提供潜在靶点。

2022-05-25 接收

基金项目: 安徽省教育厅重点项目 (编号: KJ2019A0385); 睿 E (睿意) 急诊医学研究专项基金 (编号: R2019015); 蚌埠市科技创新指导项目 (编号: 20180319)

作者单位: 蚌埠医学院第一附属医院急诊外科, 蚌埠 233000

作者简介: 郑传明, 男, 副主任医师, 硕士;

王振杰, 男, 教授, 主任医师, 责任作者, E-mail: wangzhenjie2021@163.com

partial mechanism. **Methods** With informed consent, the articular cartilage of KOA patients was collected, shredded and treated with IL-1 $\beta$  (10 ng/ml) to stimulate 96 h, and then different numbers of iPSC-MSCs ( $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$ ,  $1 \times 10^7$ ) cells were added and cultured for 3 d in a 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> incubator. In addition, IL-1 $\beta$  (10 ng/ml) induction group and culture medium control group were set up. Chondroitin sulfate assay method was used to detect glycosaminoglycan content in cartilage tissue, immunohistochemical method was used to detect the expression of type I collagen and type II collagen in the tissue, and ELISA method was used to detect the level of MMP13, IL-6 and IL-10 in the co-culture supernatant, HE staining was used to detect the pathological changes of cartilage tissue *in vitro*. **Results** Compared with the control group, IL-1 $\beta$  could induce swelling and death of chondrocytes in the cartilage tissue of KOA, increase the proportion of inflammatory cells, increase the level of type I collagen, decrease the level of type II collagen, and the level of MMP-13 and IL-6 in the culture supernatant significantly increased ( $P < 0.01$ ), and the content of IL-10 and glycosaminoglycan was significantly reduced ( $P < 0.01$ ); compared with the IL-1 $\beta$  induction group, the co-culture of iPSC-MSCs with different cell numbers could reduce the MMP-13, IL-6 level and type I collagen level in the supernatant, promote the expression of type II collagen, increase glycosaminoglycan content and IL-10 level in cartilage tissue. **Conclusion** iPSC-MSCs can regulate the level of inflammatory factors *in vitro*, inhibit the degradation of chondrocyte matrix, and have a protective effect on articular cartilage tissue.

**Key words** iPSC-MSCs; osteoarthritis; matrix protection