

· 论 著 ·

miR-92a-3p 靶向 EZH2 对 IL-1 β 诱导软骨细胞合成基质降解酶的影响

张明煊 毛文* 刘雷 祁福 李北 郑一舟

湖北省武汉市第三医院骨科,湖北 武汉 430071

中图分类号: R363 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2020) 09-1301-06

摘要: **目的** 研究 miR-92a-3p 靶向 zeste 基因增强子同源物 2(EZH2)对白细胞介素-1 β (IL-1 β)诱导的软骨细胞合成基质降解酶的影响。**方法** 分离培养人软骨细胞,分成 Normal、IL-1 β (IL-1 β 处理)、miR-NC+IL-1 β (mimics control 转染后 IL-1 β 处理)、miR-92a-3p+IL-1 β (miR-92a-3p mimics 转染后 IL-1 β 处理)组,RT-PCR 方法测定 miR-92a-3p 表达变化,Western blot 检测 MMP-13、MMP-1、COL II 蛋白表达。靶基因预测软件发现 EZH2 可能为 miR-92a-3p 的靶基因,荧光素酶报告系统鉴定靶向关系。将 pCDNA3.1-EZH2 和 miR-92a-3p mimics 共同转染到软骨细胞中,检测 MMP-13、MMP-1、COL II 蛋白表达情况。**结果** 与 Normal 比较,IL-1 β 组细胞中 miR-92a-3p 表达减少,MMP-13、MMP-1 表达增多,COL II 表达减少($P<0.05$)。与 miR-NC+IL-1 β 比较,miR-92a-3p+IL-1 β 组细胞中 miR-92a-3p 表达增多,MMP-13、MMP-1 表达减少,COL II 表达增多($P<0.05$)。miR-92a-3p 靶向负调控 EZH2 表达。pCDNA3.1-EZH2 可以逆转 miR-92a-3p mimics 对 IL-1 β 条件下软骨细胞中 MMP-13、MMP-1、COL II 蛋白表达影响。**结论** miR-92a-3p 靶向下调 EZH2 抑制 IL-1 β 诱导的软骨细胞合成基质降解酶。

关键词: 软骨细胞;EZH2;miR-92a-3p;基质降解酶

Effect of miR-92a-3p targeting EZH2 on the synthesis of matrix degrading enzymes in chondrocytes induced by IL-1 β

ZHANG Minghuan, MAO Wen*, LIU Lei, QI Fu, LI Bei, ZHENG Yizhou

Department of Orthopedics, Wuhan No. 3 Hospital, Wuhan 430071, China

* Corresponding author; MAO Wen, Email: opugf79@163.com

Abstract: **Objective** To study the effect of miR-92a-3p targeting EZH2 on the synthesis of matrix degrading enzymes in chondrocytes induced by IL-1 β . **Methods** Human chondrocytes were divided into normal, IL-1 β (treatment of IL-1 β), miR-NC+IL-1 β (treatment of IL-1 β after mimics control transfection), and miR-92a-3p+IL-1 β (treatment of IL-1 β after miR-92a-3p mimics transfection) group. The expression of miR-92a-3p was determined using RT-PCR. Western blotting was used to detect the expression of MMP-13, MMP-1, and col II. It was predicted with a software that EZH2 might be the target gene of miR-92a-3p. The target relationship was identified by luciferase report system. pCDNA3.1-EZH2 and miR-92a-3p mimics were co-transfected into chondrocytes. The protein expressions of MMP-13, MMP-1, and col II were detected. **Results** Compared with those in normal group, the expression of miR-92a-3p decreased, the expressions of MMP-13 and MMP-1 increased, and the expression of col II decreased in IL-1 β group ($P<0.05$). Compared with those in miR-NC+IL-1 β group, the expression of miR-92a-3p increased, the expressions of MMP-13 and MMP-1 reduced, and the expression of col II increased in miR-92a-3p+IL-1 β group ($P<0.05$). miR-92a-3p negatively target-regulated EZH2 expression. pCDNA3.1-EZH2 reversed the effect of miR-92a-3p mimics on the expressions of MMP-13, MMP-1, and col II in chondrocytes with the condition of IL-1 β . **Conclusion** miR-92a-3p targeted down-regulation of EZH2 inhibits IL-1 β -induced matrix degrading enzyme synthesis in chondrocytes.

Key words: chondrocyte; EZH2; miR-92a-3p; matrix degrading enzyme

骨关节炎是一种严重影响人类生活质量的退行

性疾病,其以关节基质破坏为特点^[1]。研究^[2]表明,致炎因子白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)诱导的软骨细胞损伤是骨关节炎发生的重要原因之一。miRNA 是存在于人体中的重要调节因子,其几

基金项目:武汉市卫生健康委员会资助项目(WX19C18)

* 通信作者:毛文,Email:opugf79@163.com

乎在人类的所有组织和器官中均有表达,参与细胞生长、胚胎发育等生理过程^[3]。研究^[4]显示,miRNA异常表达与疾病的发生和进展有关,人为的靶向调控miRNA的表达可能是有效防治疾病的重要手段。miR-92a-3p作为miRNA成员,参与影响多种细胞的生理和病理转化过程,比如肿瘤、心血管系统疾病、红斑狼疮等疾病的发生^[5-7]。以往研究^[8]证实,miR-92a-3p在骨关节炎软骨组织中表达下调。miRNA发挥生物学作用与靶向影响下游基因的表达有关。我们预实验显示zeste基因增强子同源物2(enhancer of zeste homolog 2, EZH2)与miR-92a-3p可能互为靶向关系。EZH2是一个在骨关节炎中表达水平异常升高的调控基因,影响软骨细胞基质降解酶合成^[9]。现阶段对于miR-92a-3p在骨关节炎软骨细胞合成基质降解酶中的作用还不明确。本研究以人骨关节软骨细胞为研究对象,用诱导因子IL-1 β 体外构建骨关节炎软骨细胞模型,探讨miR-92a-3p对骨关节炎软骨细胞合成基质降解酶的影响和机制,以期靶向基因治疗骨关节炎提供思路。

1 材料和方法

1.1 材料

收集湖北省武汉市第三医院髋关节置换术(非骨关节炎患者)中切除的关节软骨组织共5例,标本采集经过患者和家属知情同意。pCDNA3.1和pCDNA3.1-EZH2由湖南普拉特泽生物科技有限公司构建;COLII抗体购自武汉云克隆科技股份有限公司;MicroRNA Reverse Transcription Kit购自美国Thermo;miR-92a-3p mimics、mimics control由南京博恩生物技术有限公司构建合成;MMP-13抗体、MMP-1抗体购自美国Abcam;引物由北京优博兰基因技术有限公司合成;EZH2抗体购自艾美捷科技有限公司。

1.2 人关节软骨细胞分离培养

采用单层细胞培养方法分离培养人关节软骨细胞,步骤参照文献^[10],取软骨组织,浸泡到PBS溶液中,然后添加2.5 g/L的胰蛋白酶消化约15 min。将关节软骨周围的多余组织去除,然后用PBS再次洗涤,剪碎成1 mm³的组织块,添加消化液(含有20%血清、0.2% II型胶原酶),消化20 h以后,收集细胞悬浮液,以150目的滤网将细胞过滤,1 500 g离心10 min。添加含有10%胎牛血清的DMEM/F12细胞培养液将细胞悬浮,接种到细胞培养板中,在37℃,5% CO₂培养箱中培养24 h,2 d后换液。

细胞经过II型胶原免疫组化法鉴定为软骨细胞。

1.3 RT-PCR检测IL-1 β 处理对软骨细胞中miR-92a-3p表达影响

收集软骨细胞,用含IL-1 β 浓度为0、10 ng/mL的细胞培养液培养,记为Normal、IL-1 β 组,48 h以后收集细胞用RT-PCR方法检测。步骤为:用试剂盒提取细胞中的RNA(Trizol法),使用特异性的颈环引物反转录合成cDNA,cDNA合成用MicroRNA Reverse Transcription Kit。用SYBR Premix EX Taq进行RT-PCR检测,内参为U6。根据反应的Ct值对miR-92a-3p表达水平进行定量,计算方法为2^{- $\Delta\Delta$} Ct法。PCR反应程序为:95℃ 20 s,95℃ 10 s,60℃ 20 s,一共40个循环。引物序列为:U6-Sense: 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', Antisense: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。miR-92a-3p-Sense: 5'-GGGGCAGTTATTGCACTTGTC-3', Antisense: 5'-CCAGTGCAGGGTCCGAGGTA-3'。

1.4 细胞转染和过表达效果检测

在人软骨细胞中转染miR-92a-3p mimics和mimics control,转染步骤参照转染试剂Lipofectamine 2000,将转染以后的细胞用含有IL-1 β 浓度为10 ng/mL的细胞培养液培养,记为miR-92a-3p+IL-1 β 和miR-NC+IL-1 β 组,把没有转染的软骨细胞用含有IL-1 β 浓度为10 ng/mL的细胞培养液培养记为IL-1 β 组。细胞培养48 h以后,用RT-PCR方法测定细胞中miR-92a-3p表达变化,步骤同上。

1.5 Western blot检测MMP-13、MMP-1、COL II蛋白表达

收集培养48 h以后的Normal、IL-1 β 、miR-NC+IL-1 β 、miR-92a-3p+IL-1 β 组细胞,添加RIPA蛋白裂解试剂,放在冰上裂解,细胞刮刀将细胞收集并转移至离心管中,10 000 g离心15 min,吸取上清,Bradford法检测蛋白浓度。蛋白样品中添加等体积的上样缓冲液,置于100℃中孵育5 min。本研究用10%的分离胶和5%的浓缩胶进行电泳,在浓缩胶中采用90 V电压电泳,在分离胶中采用120 V电压电泳,蛋白上样量为40 μ g。观察溴酚蓝染料电泳到凝胶的底部以后,进行转膜。取PVDF膜,设置60 V电压将蛋白从分离胶转移到PVDF膜上。PVDF膜放在5%脱脂奶粉溶液中封闭2 h;然后将PVDF膜放在TBST中洗涤3次,再置于1:800稀释以后的一抗溶液中充分结合;再次用TBST洗涤3次,最后把PVDF膜放在1:2 000稀释的二抗溶液中充分结合。抗体以封闭液稀释。按照ECL方法显色。内

参为 β -actin。根据条带的吸光度值分析目的蛋白表达变化。

1.6 miR-92a-3p 靶基因预测和鉴定

Targetscan 在线靶基因预测软件发现 EZH2 可能为 miR-92a-3p 的靶基因, EZH2 的 3' UTR 端存在与 miR-92a-3p 结合位点。分别构建野生型 (WT) 和突变型 (MUT) 荧光素酶报告载体 (由上海正茂生物科技有限公司构建)。将 WT、MUT 分别同 miR-92a-3p mimics 和 mimics control 共转染到软骨细胞中, 继续培养 48 h 以后, 用荧光素酶活性检测试剂盒测定荧光素酶变化。同时收集培养 48 h 以后的 Normal、IL-1 β 、miR-NC+IL-1 β 、miR-92a-3p+IL-1 β 组细胞, 用 Western blot 方法测定 EZH2 蛋白表达变化, 步骤同上。

1.7 检测 pCDNA3.1-EZH2 对过表达 miR-92a-3p 影响细胞 MMP-13、MMP-1、COL II 表达的作用

将 miR-92a-3p mimics、pCDNA3.1 和 miR-92a-3p mimics、pCDNA3.1-EZH2 分别共转染到软骨细胞中, 并用含有 IL-1 β 浓度为 10 ng/mL 的细胞培养液培养, 记为 miR-92a-3p+ pCDNA3.1+IL-1 β 、miR-92a-3p+ pCDNA3.1-EZH2+IL-1 β 组, 细胞培养 48 h 以后, 用 Western blot 方法检测细胞中 EZH2 蛋白表达变化, 步骤同上。

1.8 统计学处理

用软件 SPSS 21.0 分析本研究数据, 数据均按照均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 两组数据间比较用 t 检验, 多组差异比较用单因素方差, 组间比较用 SNK- q 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-1 β 对软骨细胞中 miR-92a-3p 表达影响

如表 1, IL-1 β 处理以后的软骨细胞中 miR-92a-3p 表达水平明显下降 ($P<0.05$)。IL-1 β 可以抑制软骨细胞中 miR-92a-3p 表达。

表 1 IL-1 β 处理后软骨细胞中 miR-92a-3p 表达水平 ($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Expression of miR-92a-3p in chondrocytes with the condition of IL-1 β ($\bar{x}\pm s$)

组别	miR-92a-3p 水平
Normal	1.00 $\pm$ 0.10
IL-1 β	0.46 $\pm$ 0.06 *
t 值	8.020
P 值	0.001

注: 与 Normal 组比较, * $P<0.05$ 。

2.2 miR-92a-3p mimics 对 IL-1 β 条件下软骨细胞中 miR-92a-3p 表达影响

如表 2, miR-92a-3p mimics 转染后的软骨细胞

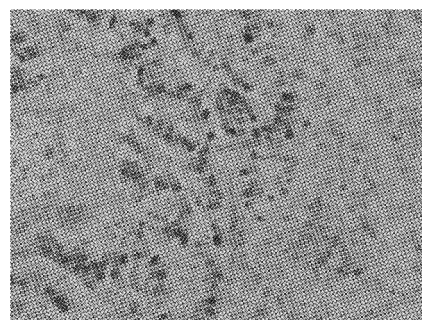


图 1 II 型胶原免疫组化法鉴定软骨细胞

Fig. 1 Identification of chondrocytes with collagen II immunohistochemistry

经过 IL-1 β 诱导处理以后, 细胞中的 miR-92a-3p 表达水平明显升高 ($P<0.05$)。miR-92a-3p mimics 提高 IL-1 β 条件下软骨细胞中 miR-92a-3p 表达水平。

表 2 miR-92a-3p mimics 转染后经 IL-1 β 处理的软骨细胞中 miR-92a-3p 表达水平 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Expression of miR-92a-3p in chondrocytes with the condition of IL-1 β after transfection of miR-92a-3p mimics ($\bar{x}\pm s$)

组别	miR-92a-3p 水平
IL-1 β	1.00 $\pm$ 0.11
miR-NC+IL-1 β	0.97 $\pm$ 0.13
miR-92a-3p+IL-1 β	2.75 $\pm$ 0.23 *
F 值	114.136
P 值	<0.001

注: 与 miR-NC+IL-1 β 组比较, * $P<0.05$ 。

2.3 过表达 miR-92a-3p 对 IL-1 β 条件下软骨细胞 MMP-13、MMP-1、COL II 表达影响

如图 2 和表 3, IL-1 β 处理以后的软骨细胞中 MMP-13、MMP-1 表达水平升高, COL II 表达水平下降 ($P<0.05$); miR-92a-3p mimics 转染可以明显减少 IL-1 β 条件下软骨细胞中 MMP-13、MMP-1 蛋白表达并促进细胞中 COL II 蛋白表达 ($P<0.05$)。

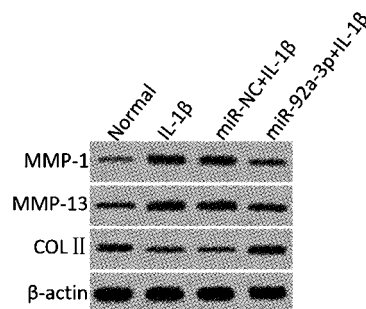


图 2 Western blot 法检测 miR-92a-3p mimics 转染后经 IL-1 β 处理的软骨细胞中 MMP-13、MMP-1、COL II 蛋白表达变化

Fig. 2 Protein expressions of MMP-13, MMP-1, and collagen II in chondrocytes with the condition of IL-1 β after transfection of miR-92a-3p mimics

表 3 miR-92a-3p mimics 转染后经 IL-1 β 处理的软骨细胞中 MMP-13、MMP-1、COL II 蛋白表达水平($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Levels of protein expressions of MMP-13, MMP-1, and col II in chondrocytes with the condition of IL-1 β after transfection of miR-92a-3p mimics($\bar{x}\pm s$)

组别	MMP-13	MMP-1	COL II
Normal	0.26 $\pm$ 0.05	0.18 $\pm$ 0.02	0.50 $\pm$ 0.04
IL-1 β	0.63 $\pm$ 0.06 [*]	0.60 $\pm$ 0.05 [*]	0.30 $\pm$ 0.05 [*]
miR-NC+IL-1 β	0.62 $\pm$ 0.04	0.61 $\pm$ 0.05	0.29 $\pm$ 0.03
miR-92a-3p+IL-1 β	0.38 $\pm$ 0.03 [#]	0.24 $\pm$ 0.03 [#]	0.49 $\pm$ 0.06 [#]
F 值	46.640	100.238	18.651
P 值	<0.001	<0.001	0.001

注:与 Normal 组比较,^{*} $P<0.05$;与 miR-NC+IL-1 β 组比较,[#] $P<0.05$ 。

Position 206-212 of EZH2 3' UTR 5' ...GUACCAGUGAAUUUUGGAGCCAA... MUT

Position 206-212 of EZH2 3' UTR 5' ...GUACCAGUGAAUUUUUGCAAUAA... WT

hsa-miR-92a-3p 3' UGUCCGGCCUGUUCACGUUAU

图 3 在线靶基因预测结果示意图

Fig.3 Illustrating chart of on-line target gene prediction

表 4 细胞荧光素酶活性($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Activity of luciferase report system($\bar{x}\pm s$)

组别	MUT	WT
miR-NC	1.00 $\pm$ 0.09	1.00 $\pm$ 0.08
miR-92a-3p	0.99 $\pm$ 0.12	0.44 $\pm$ 0.03 [*]
t 值	0.116	11.352
P 值	0.914	<0.001

注:与 miR-NC 组比较,^{*} $P<0.05$ 。

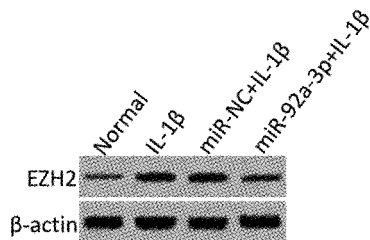


图 4 Western blot 法检测 miR-92a-3p mimics 转染后经 IL-1 β 处理的软骨细胞中 EZH2 蛋白表达变化

Fig.4 Protein expression of EZH2 in chondrocytes with the condition of IL-1 β after transfection of miR-92a-3p mimics

2.6 pCDNA3.1-EZH2 对过表达 miR-92a-3p 影响软骨细胞中 MMP-13、MMP-1、COL II、EZH2 蛋白表达的作用

如图 5 和表 6, 与 pCDNA3.1、miR-92a-3p mimics 共转染比较, pCDNA3.1-EZH2、miR-92a-3p mimics 共转染可以提高 IL-1 β 条件下软骨细胞中 MMP-13、MMP-1、EZH2 蛋白表达水平, 减少细胞中 COL II 蛋白表达水平($P<0.05$)。pCDNA3.1-EZH2 可以逆转过表达 miR-92a-3p 对关节软骨细胞中

2.4 miR-92a-3p 靶向关系预测和鉴定

如图 3 和表 4, 在线靶基因预测软件发现 EZH2 的 3' UTR 端与 miR-92a-3p 有碱基互补结合位点, 并且 EZH2-WT 转染可以降低细胞荧光素酶活性。miR-92a-3p 和 EZH2 互为靶向关系。

2.5 过表达 miR-92a-3p 对 IL-1 β 条件下软骨细胞 EZH2 表达影响

如图 4 和表 5, IL-1 β 处理以后的软骨细胞中 EZH2 表达水平升高($P<0.05$); miR-92a-3p mimics 转染可以明显减少 IL-1 β 条件下关节软骨细胞中 EZH2 蛋白表达($P<0.05$)。miR-92a-3p 靶向负调控 EZH2。

MMP-13、MMP-1、COL II 蛋白表达的影响。

表 5 miR-92a-3p mimics 转染后经 IL-1 β 处理的软骨细胞中 EZH2 蛋白表达水平($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Level of protein expression of EZH2 in chondrocytes with the condition of IL-1 β after transfection of miR-92a-3p mimics($\bar{x}\pm s$)

组别	EZH2
Normal	0.21 $\pm$ 0.03
IL-1 β	0.67 $\pm$ 0.05 [*]
miR-NC+IL-1 β	0.66 $\pm$ 0.07
miR-92a-3p+IL-1 β	0.36 $\pm$ 0.04 [#]
F 值	62.909
P 值	<0.001

注:与 Normal 组比较,^{*} $P<0.05$;与 miR-NC+IL-1 β 组比较,[#] $P<0.05$ 。

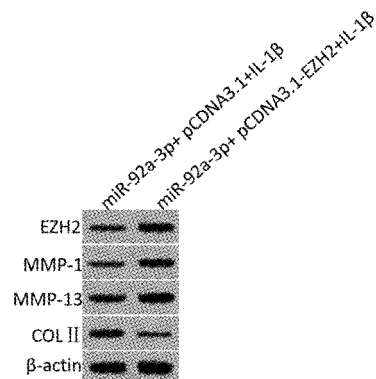


图 5 Western blot 法检测 miR-92a-3p mimics 和 pCDNA3.1-EZH2 共转染后经 IL-1 β 处理的软骨细胞中 EZH2 蛋白表达变化

Fig.5 Protein expression of EZH2 in chondrocytes with the condition of IL-1 β after co-transfection of miR-92a-3p mimics and pCDNA3.1-EZH2

表 6 miR-92a-3p mimics 和 pCDNA3.1-EZH2 共转染后经 IL-1 β 处理的软骨细胞中 MMP-13、MMP-1、COL II、EZH2 蛋白表达水平($\bar{x}\pm s$)**Table 6** Levels of protein expressions of MMP-13, MMP-1, and col II in chondrocytes with the condition of IL-1 β after co-transfection of miR-92a-3p mimics and pCDNA3.1-EZH2($\bar{x}\pm s$)

组别	MMP-13	MMP-1	COL II	EZH2
miR-92a-3p+ pCDNA3.1+IL-1 β	0.40 $\pm$ 0.07 [#]	0.27 $\pm$ 0.04 [#]	0.46 $\pm$ 0.05 [#]	0.35 $\pm$ 0.05 [#]
miR-92a-3p+ pCDNA3.1-EZH2+IL-1 β	0.68 $\pm$ 0.05 [*]	0.55 $\pm$ 0.06 [*]	0.28 $\pm$ 0.04 [*]	0.69 $\pm$ 0.07 [*]
<i>t</i> 值	5.638	6.725	4.869	6.846
<i>P</i> 值	<0.001	0.003	0.008	0.002

注:与 miR-92a-3p+ pCDNA3.1+IL-1 β 组比较,^{*}*P*<0.05。

3 讨论

IL-1 β 是一个促炎因子,其是骨关节炎发生的重要诱因。IL-1 β 可以诱导关节软骨细胞合成基质降解酶,加快细胞外基质降解^[11]。正常情况下,骨关节软骨组织中存在的胶原蛋白可以起到保护关节的作用,而骨关节炎发生时,胶原蛋白被降解,造成软骨组织破坏^[12]。COL II 是一种胶原蛋白,其在骨关节炎发生时水平明显下降^[13]。MMPs 是一类可以降解细胞外基质的蛋白酶,其含有多个成员,在人体不同的组织中表达,软骨细胞合成的 MMPs 能够将细胞外基质降解,破坏结缔组织,导致骨关节炎的发生^[14]。研究显示,MMP-13 和 MMP-1 均是 MMPs 家族中与骨关节炎关系最为密切的蛋白成员,其表达水平越高,骨关节炎的严重程度越高^[15]。我们的实验结果表明,IL-1 β 处理以后的软骨细胞中 MMP-13 和 MMP-1 表达水平升高,而 COL II 表达水平降低,提示成功构建了骨关节炎软骨细胞体外模型。

miRNA 是一类缺乏开放阅读框的小分子 RNA,其不具备编码蛋白质的功能。miRNA 在人体多种组织中表达,参与不同的生理过程,在细胞分化、能量代谢、神经发育等过程中发挥作用^[16]。研究表明,miRNA 与疾病发生有关,在疾病进展中发挥促进或抑制作用。miR-92a-3p 在人体中广泛表达,与肿瘤、冠心病等有关^[5,17]。研究报道显示,miR-92a-3p 参与调控关节软骨的发育以及稳态维持过程,并且 miR-92a-3p 可能与骨关节炎的发生有关,其在骨关节炎中表达下调^[8]。我们的研究结果表明,IL-1 β 处理后的关节软骨细胞中 miR-92a-3p 表达水平下降,过表达 miR-92a-3p 可以明显抑制 IL-1 β 诱导的软骨细胞合成 MMP-13 和 MMP-1,同时促进 COL II 表达,这提示 miR-92a-3p 能够减少骨关节炎软骨细胞合成基质降解酶,miR-92a-3p 在骨关节炎发生过程中可能发挥保护作用。

miRNA 作用多样,其作用机制也十分复杂,

miRNA 通过影响下游基因的表达和信号转导发挥生物学作用^[18-19]。研究表明,miRNA 靶基因调控是 miRNA 功能发挥的重要原因之一,并且同一个 miRNA 在不同的组织或生理进程中可能同时存在多个靶基因^[20]。本研究表明,miR-92a-3p 可以靶向调控软骨细胞中 EZH2 的表达。EZH2 基因定位在 7q35 染色体上,其含有多个功能结构域,具有染色体修饰功能^[21-22]。EZH2 参与骨关节炎进展,在人类关节软骨组织中表达上调,而抑制 EZH2 可以减少关节炎软骨细胞合成基质降解酶,EZH2 抑制剂可以减缓小鼠骨关节炎进展^[9]。我们的研究表明,EZH2 可以逆转 miR-92a-3p 对骨关节炎软骨细胞合成 MMP-13、MMP-1 和 COL II 的影响,提示 miR-92a-3p 作用机制与靶向影响 EZH2 表达有关。

总之,miR-92a-3p 在骨关节炎进展中可能发挥抑制作用,其在 IL-1 β 诱导的软骨细胞中表达下调,过表达 miR-92a-3p 可以减少软骨细胞合成 MMP-13、MMP-1 并促进细胞合成 COL II,作用机制与靶向负调控 EZH2 有关。以后会继续研究 miR-92a-3p 在骨关节炎软骨细胞基质降解酶合成中的下游网络调控机制。本研究果为研究骨关节炎发生机制提供了参考,为靶向基因治疗骨关节炎提供了方向。

【参 考 文 献】

- [1] Holyoak DT, Chlebek C, Kim MJ, et al. Low-level cyclic tibial compression attenuates early osteoarthritis progression after joint injury in mice [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2019, 27(10): 1526-1536.
- [2] Zheng G, Zhan Y, Tang Q, et al. Monascin inhibits IL-1 β induced catabolism in mouse chondrocytes and ameliorates murine osteoarthritis [J]. Food Funct, 2018, 9(3): 1454-1464.
- [3] Ding Y, Wang L, Zhao Q, et al. MicroRNA93 inhibits chondrocyte apoptosis and inflammation in osteoarthritis by targeting the TLR4/NF κ B signaling pathway [J]. Int J Mol Med, 2019, 43(2): 779-790.

(下转第 1363 页)

- sustained osteodifferentiation of mesenchymal stem cells [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, 70(1): 62-70.
- [19] 朱志灵, 邵安良, 孙雪莲, 等. 丹参注射液体外对原代人软骨细胞的生物效应实验研究 [J]. *药物分析杂志*, 2018, 38(2): 275-281.
- (上接第 1305 页)
- [4] Kyuno D, Zhao K, Bauer SN, et al. Therapeutic targeting cancer-initiating cell markers by exosome miRNA: efficacy and functional consequences exemplified for claudin7 and EpCAM [J]. *Transl Oncol*, 2019, 12(2): 191-199.
- [5] Fu F, Jiang W, Zhou L, et al. Circulating exosomal miR-17-5p and miR-92a-3p predict pathologic stage and grade of colorectal cancer [J]. *Transl Oncol*, 2018, 11(2): 221-232.
- [6] Wang XL, Zhao YY, Sun L, et al. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells improve myocardial repair via upregulation of Smad7 [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(5): 3063-3072.
- [7] 李羿, 申兵冰, 徐小松, 等. 外泌体 miRNA 与疾病诊治的研究进展 [J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(9): 2003-2017.
- [8] Mao G, Zhang Z, Huang Z, et al. MicroRNA-92a-3p regulates the expression of cartilage-specific genes by directly targeting histone deacetylase 2 in chondrogenesis and degradation. [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2017, 25(4): 521-532.
- [9] Chen L, Wu Y, Wu Y, et al. The inhibition of EZH2 ameliorates osteoarthritis development through the Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Sci Rep*, 2016, 19(6): 29176-29189.
- [10] Collins JA, Arbeeve I, Chubinskaya S, et al. Articular chondrocytes isolated from the knee and ankle joints of human tissue donors demonstrate similar redox-regulated MAP kinase and Akt signaling [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2019, 27(4): 703-711.
- [11] Ni Z, Kuang L, Chen H, et al. The exosome-like vesicles from osteoarthritic chondrocyte enhanced mature IL-1 β production of macrophages and aggravated synovitis in osteoarthritis [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(7): 522.
- [12] Qu Y, Wang C, Liu N, et al. Morin exhibits anti-inflammatory effects on IL-1 β -stimulated human osteoarthritis chondrocytes by activating the Nrf2 signaling pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51(4): 1830-1838.
- [13] 周盈, 黄倩, 王帅, 等. 茶黄素对白介素-1 β 诱导的大鼠软骨细胞炎症退变的影响 [J]. *浙江大学学报 (农业与生命科学版)*, 2017, 43(4): 511-518.
- [20] 李杨, 张延辉, 王云枫, 等. 丹参提取物促进骨髓间充质干细胞增殖及成骨分化的研究 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23(8): 1030-1033.
- (收稿日期: 2019-12-17; 修回日期: 2020-01-15)
- [14] Liu SC, Tsai CH, Wu TY, et al. Soya-cerebroside reduces IL-1 β -induced MMP-1 production in chondrocytes and inhibits cartilage degradation: implications for the treatment of osteoarthritis [J]. *Food Agricult Immunol*, 2019, 30(1): 620-632.
- [15] Wu TJ, Lin CY, Tsai CH, et al. Glucose suppresses IL-1 β -induced MMP-1 expression through the FAK, MEK, ERK, and AP-1 signaling pathways [J]. *Environ Toxicol*, 2018, 33(10): 1061-1068.
- [16] 吴慧, 范恒, 刘星星. MicroRNA-146a 生物学作用的研究进展 [J]. *世界华人消化杂志*, 2019, 27(18): 1155-1160.
- [17] Wang W, Li Z, Zheng Y, et al. Circulating microRNA-92a level predicts acute coronary syndrome in diabetic patients with coronary heart disease [J]. *Lipids Health Dis*, 2019, 18(1): 22-29.
- [18] Müller S, Bley N, Claß M, et al. IGF2BP1 enhances an aggressive tumor cell phenotype by impairing miRNA-directed downregulation of oncogenic factors [J]. *Nucl Acids Res*, 2018, 46(12): 6285-6303.
- [19] Leão R, van Agthoven T, Figueiredo A, et al. Serum miRNA predicts viable disease after chemotherapy in patients with testicular nonseminoma germ cell tumor [J]. *J Urol*, 2018, 200(1): 126-135.
- [20] Peng KY, Chang HM, Lin YF, et al. miRNA-203 modulates aldosterone levels and cell proliferation by targeting Wnt5a in aldosterone-producing adenomas [J]. *J Clin Endocrinol Metabol*, 2018, 103(10): 3737-3747.
- [21] Dudakovic A, Camilleri ET, Paradise CR, et al. Enhancer of zeste homolog 2 (Ezh2) controls bone formation and cell cycle progression during osteogenesis in mice [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(33): 12894-12907.
- [22] Tian X, Xu J, Dorfman DM. Utility of combined EZH2, p-ERK1/2, p-STAT, and MYC expression in the differential diagnosis of EZH2-positive hodgkin lymphomas and related large B-Cell lymphomas [J]. *Am J Surg Pathol*, 2019, 43(1): 102-109.
- (收稿日期: 2019-12-10; 修回日期: 2020-01-03)