

· 基础研究 ·

miR-145 体内转染对小鼠骨关节炎模型的影响[△]苑 龙¹, 郑海艺², 李 森¹, 卞继超¹, 田 珂², 王国栋^{2*}

(1. 济宁医学院临床医学院, 山东济宁 272000; 2. 济宁医学院附属医院骨关节科, 山东济宁 272000)

摘要: [目的] 探讨 miR-145 体内转染对骨性关节炎模型小鼠关节软骨的影响。[方法] 8 周龄雄性 C57 小鼠 40 只, 随机分为 4 组, 每组 10 只。分别为正常对照组 (normal control, NC)、骨性关节炎模型组 (osteoarthritis model, OAM)、正常动物转染组 (transferred normal animal, TNA) 及 OA 模型转染组 (transferred OAM, TOAM)。对 OAM 和 TOAM 组动物切断全部内侧半月板-胫骨韧带建立 OA 模型。7、10 d 时, 对 TOAM 组和 TNA 组关节腔内注射载有 miR-145 的腺病毒液 20 μ l。再过 4 d 后过度麻醉处死动物。行大体和组织学观察, 并采用 qPCR 和 Western blot 检测相应标志物。[结果] 形态方面, 与 NC 组相比, OAM 组关节软骨结构明显紊乱, 纤维细胞增生, 基质着色主要呈现蓝绿色。TNA 组的软骨结构完整, 但陷窝中出现空泡, 基质着色呈蓝绿色。相比之下, TOAM 组软骨结构完整, 关节软骨基质着色呈红色, 与 NC 组接近。免疫组化检测显示, 与 NC 组相比, OAM 组和 TNA 组的 FRS2、LC3 和 p62 染色的 OD 值均显著增加 ($P < 0.05$); 而 TOAM 组的 FRS2、LC3 和 p62 染色的 OD 值显著低于 OAM 组和 TNA 组 ($P > 0.05$)。定量检测方面, 与 NC 组相比, OAM 组的 miRNA-145 的 mRNA 表达水平显著下降 ($P < 0.05$), 而体内转染后, TNA 组和 TOAM 组的 miRNA-145 的 mRNA 表达水平显著高于 NC 组 ($P < 0.05$)。OAM 组的 LC3III/I 比值降低且 p62 表达水平显著升高 ($P < 0.05$)。TOAM 组的 p62 的表达水平显著低于 OAM 组和 TNA 组 ($P < 0.05$)。[结论] miR-145 体内转染可减轻关节失稳状的软骨退变, 其机理可能与改变软骨自噬功能有关。

关键词: 骨关节炎, miR-145, 成纤维细胞生长因子受体底物-2, 自噬

中图分类号: R318 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2022) 18-1674-06

Effect of transfection of miRNA-145 in vivo on the articular cartilage of osteoarthritis model in mice // YUAN Long¹, ZHENG Hai-yi², LI Sen¹, BIAN Ji-chao¹, TIAN Ke², WANG Guo-dong². 1. College of Clinical Medicine, Jining Medical University, Jining 272000, China; 2. Department of Osteoarthritis, Affiliated Hospital, Jining Medical University, Jining, Shandong 272000, China

Abstract: [Objective] To investigate the effect of miR-145 transfection in vivo on articular cartilage of osteoarthritis (OA) model in mice. **[Methods]** Forty male C57 mice aged 8 weeks were randomly divided into 4 groups with 10 mice in each group, including normal control group (NC), osteoarthritis model group (OAM), transfected normal animal (TNA), and transfected OA model (TOAM). The animals in the OAM and TOAM groups received total resection of medial meniscus-tibial ligament to create OA model. At 7 d and 10 d, 20 μ l of adenovirus vector carrying miR-145 was injected into the joint cavity of the mice in the TOAM group and TNA group. The animals were sacrificed after another 4 days by excessive anesthesia, and then gross and histological observation were conducted, while qPCR and western blot assays were used to detect corresponding markers. **[Results]** In terms of morphology, the structure of articular cartilage in OAM group was obviously disordered, with fibrocyte proliferation and matrix stained in mainly blue-green compared with the NC group, while which preserved intact in structure, but with vacuoles in the lacunae, and the matrix in blue-green in the TNA group, whereas intact cartilage structure was noted in the TOAM group with red color of articular cartilage matrix similar to the NC group. In term of immunohistochemistry, the OD values of FRS2, LC3 and p62 staining were significantly increased in OAM group compared with those in the NC group and TNA group ($P < 0.05$), whereas which in the TOAM group were significantly lower than those in OAM group and TNA group ($P < 0.05$). In terms of the quantitative detections, mRNA expression level of miR-145 in OAM group was significantly decreased ($P < 0.05$), while which significantly ramped up in the TNA group and TOAM group compared with NC group ($P < 0.05$). In OAM group the LC3III/I ratio significantly decreased ($P < 0.05$) and p62 expression level were significantly increased compared with those in NC group ($P < 0.05$), while which in the TOAM group was significantly lower than that in OAM group and TNA group ($P < 0.05$). **[Conclusion]** In vivo transfection of miR-145 does

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2022.18.09

[△]基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81871814);济宁市重点研发计划项目(编号:2020YXNS022)

作者简介:苑龙,在读医学硕士,研究方向:关节软骨损伤与修复,(电话)17853736684,(电子信箱)yuanlong365@163.com

*通信作者:王国栋,(电话)15106722107,(电子信箱)15106722107@163.com

alleviate cartilage impairment in this joint instable state for marking OA model, and its mechanism may be related to the change of autophagy function of cartilage.

Key words: osteoarthritis, miRAN-145, fibroblast growth factor receptor substrate 2 (FRS2), autophagy

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是最常见的退行性关节疾病之一, 其临床特点主要是关节肿胀、滑膜炎和炎性疼痛, 最终导致身体残疾和生活质量下降^[1]。目前, OA 的治疗仅限于针对疼痛的对症治疗, 例如非类固醇抗炎药物、环氧合酶 2 抑制剂等药物的应用, 但这些治疗措施难以逆转关节软骨的丧失。OA 的病因有很多, 包括关节损伤、关节发育不良、肥胖、年龄和遗传等因素, 然而 OA 具体发病机制仍未明确^[2]。因此, 深入研究 OA 的发病机制十分迫切, 以便找到治疗该疾病的新靶点和方法。

MiRNA 是一类天然存在的小型非编码 RNA, 广泛存在于真核生物基因组中。研究发现, miRNA 可通过调节自噬活性参与多种疾病的发生发展。自噬是细胞凋亡的重要途径, 它通过溶酶体中的酶水解细胞内的异性蛋白质、受损细胞器和外来病原体, 还具有给细胞提供能量等作用, 因而自噬能在一定程度上保护细胞^[3]。当自噬作用在适当水平内时, 可维持细胞的应激能力, 自噬作用过强则会导致细胞自发性死亡^[4]。适度增强软骨细胞的自噬作用, 骨性关节炎严重程度可随着自噬作用的增强而降低^[5]。

本研究通过检测自噬相关蛋白 LC3II/I、p62、FRS2 的表达, 研究 miR-145 与 C57 小鼠膝关节软骨细胞自噬活性之间的关系, 进一步阐明 OA 发病机理, 从而通过自噬调节来开发针对 OA 的潜在治疗策略。

1 材料与方法

1.1 实验动物与材料

C57 小鼠 [许可证号: SCXK (湘) 2019-0004, 湖南斯莱克景达实验动物有限公司]。改良番红-O-固绿软骨染色液 (G1371, Solarbio); 移液枪 (Eppendorf); SQSTM1/p62 (AF5384, Affinity); FRS2 (AF6466, Affinity); 辣根酶标记山羊抗兔 IgG (H+L) (ZB-2301, 中杉金桥); LC3A/B (AF5402, Affinity); DAB 显色试剂盒 (CW0125, CWBIO); 中性树脂 (CW0136, CWBIO); 苏木素染色 (AR1180-1, 博生德生物); miR-145 慢病毒载体 (江西中洪博元生物技术有限公司); Super Script III 第一链合成系统 (美国 Thermo Fisher 公司); PCR 系统 ABI9700 (美

国 Thermo Fisher 公司); Lipofectamine 2000 (美国 Thermo Fisher 公司); miRNA 抑制剂 (美国 Thermo Fisher 公司)。

1.2 动物分组与处理

8 周龄雄性 C57 小鼠 40 只, 体重 (24.19±1.73) g; 饲养为温度 18℃~26℃, 湿度为 30%~70%。随机将动物分为 4 组, 每组 10 只。分别为正常对照组 (normal control, NC)、骨性关节炎模型组 (osteoarthritis model, OAM)、正常动物转染组 (transfected normal animal, TNA) 及 OA 模型转染组 (transfected OAM, TOAM)。

OA 模型建立: 对 OAM 和 TOAM 组动物首先行建立 OA 模型的手术处理。5%水合氯醛腹腔注射, 400 mg/kg。行右膝部切口, 将髌骨向一侧滑动, 暴露滑车沟位置, 极度屈膝, 暴露半月板, 切断全部内侧半月板-胫骨韧带, 确认半月板呈可移动状态^[10], 逐层缝合切口, 术后膝关节自由活动。NC 组和 TNA 组动物未行建模手术处理。

体内转染处理: 于建模手术后 7、10 d 对 TOAM 组及 TNA 组进行体内转染处理, 关节腔内注射包装 miR-145 过表达质粒的腺病毒液 20 μl^[7]。末次注射后 4 d, 过度麻醉处死动物。NC 组和 OAM 组未行体内转染处理, 于相应时间点采用相同方法处死, 取出相应侧膝关节, 行以下检测。

1.3 检测指标

1.3.1 大体形态与组织学观察

大体形态观察: 造模后观察小鼠膝关节活动度、胫骨平台和股骨末端关节软骨的光泽、颜色以及骨赘形成情况。

组织学观察: 取膝关节标本固定、脱钙、脱水, 石蜡包埋。制备 5 μm 的石蜡切片, 脱蜡, 水化后, 滴加 PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min。加入新鲜配制的 Weigert 染色溶液, 染色 5 min, 用水洗涤; 酸性分化液分化 15 s; 蒸馏水清洗 10 min; 滴加固绿染色液染 10 min。用弱酸溶液快速清洗切片 15 s, 除去固绿残留, 再滴加番红 O 染色 5 min, 用水洗涤; 逐级乙醇快速脱水, 二甲苯透明切片, 光学树脂胶封固。

1.3.2 免疫组化检测

免疫组化检测 FRS2, 以及自噬标志物 LC3、p62 的表达。制备石蜡切片, 逐级复水。抗原修复将切片

置于修复盒内，加入胃蛋白酶，保持 37℃ 40 min，在 PBS 中浸泡切片 3 次。将切片移入湿盒中，加入新鲜的 3% H₂O₂ 溶液除去封闭溶液中的过氧化物酶。在室温下培育 10 min，然后用 PBS 彻底清洗。在 PBS 中浸泡切片 3 次，每次 5 min，擦净多余的 PBS。在玻片上滴加 5% BSA，保持 37℃ 30 min。用吸水纸吸取组织周围的封闭液，不清洗，每张玻片滴加适量的稀释一抗：p62 (1:100)、FRS2 (1:100) 置于湿盒中，4℃ 过夜。取出 4℃ 孵育过夜湿盒，置于室温 45 min，在 PBS 中浸泡切片 3 次，每次 5 min，滴加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG (H+L) (1:100)，然后于 37℃ 培育 30 min，再用 PBS 彻底清洗。DAB 显色 5~10 min，显微镜下把控染色，用 PBS 清洗 1 min；苏木精染色 3 min，盐酸-乙醇分化，返蓝；自来水清洗 1 min，干燥、透明、封片、显微镜检查。

1.3.3 qPCR 检测

用液氮将 C57 小鼠膝关节股骨髁表面的软骨组织研磨匀浆后，Trizol 法提取总 RNA。使用 Super-Script III 第一链合成系统合成 cDNA。使用 PCR 系统 9700 (ABI) 进行 qPCR 反应。使用 2^{-ΔΔCt} 方法分析 miRNA 的相对表达水平。qPCR 引物如下：miR-145-F:5'-GTCCAGTTTTCCAGGAATCC-3'。

1.3.4 Western blot 检测

取 C57 小鼠膝关节股骨髁表面的软骨，剪碎后加入裂解液，再用组织匀浆器做成组织匀浆，将制备的组织匀浆 12 000 r/min 离心 15 min，收集上清。BCA

法测定蛋白浓度。将 50 μg 蛋白样品进行 SDS-PAGE 凝胶电泳，接下来转 PVDF 膜，分别进行一抗、二抗和显影液的孵育，暗室曝光显影。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 21.0 和 GraphPad Prism 5 软件分析实验数据，计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，资料呈正态分布时，采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD 法。资料呈非正态分布时，采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大体形态与组织学观察

OA 模型制备完成后，OAM 组小鼠右膝关节活动受限、僵直明显，TOAM 组小鼠右膝关节活动轻微受限，但两者均比 NC 组关节活动度差。OAM 组 2 周后可见右膝胫骨平台及股骨末端关节软骨表面略粗糙，失去正常光泽，透明度下降，颜色较正常颜色偏黄，局部软化，并伴有骨赘形成。TOAM 小鼠软骨则显示轻度退行性改变。

股骨髁表面的软骨组织切片番红 O 染色结果见图 1，与 NC 组相比 (图 1a)，OAM 组关节软骨结构明显紊乱，纤维细胞增生，基质着色主要呈现蓝绿色 (图 1b)。TNA 组的软骨结构完整，但陷窝中出现空泡，基质着色呈蓝绿色 (图 1c)。相比之下，TOAM 组软骨结构完整，关节软骨基质着色呈红色，与 NC 组接近 (图 1d)。

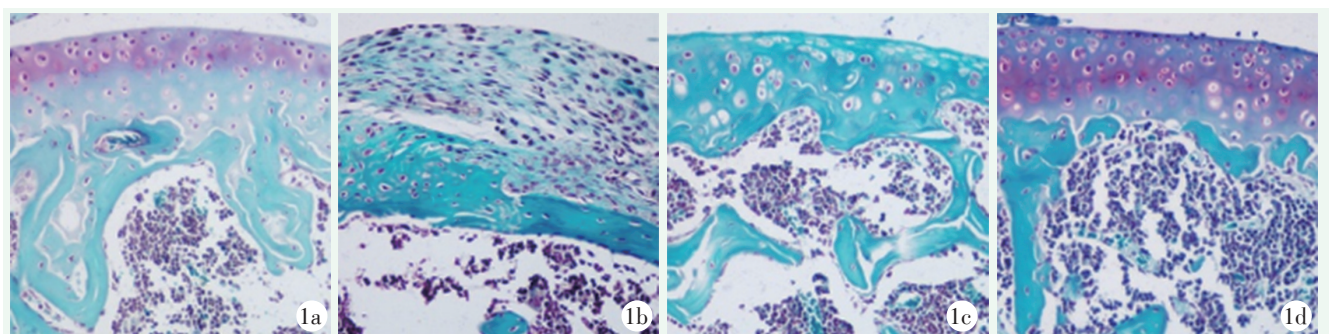


图 1 小鼠股骨远端骨关节的番红 O 染色结果图 (×400) 1a: NC 组的关节软骨、潮线、软骨下骨与松质骨结构正常，软骨基质着色呈红色 1b: OAM 组的关节软骨结构紊乱，纤维细胞增生，软骨基质呈蓝绿色 1c: TNA 组的关节软骨结构完整，但陷窝中出现空泡，基质着色呈蓝绿色 1d: TOAM 组软骨结构完整，关节软骨基质着色呈红色，与 NC 组接近

2.2 免疫组化

免疫组化检测 FRS2，以及自噬标志物 LC3、p62 的表达典型图像见图 2。与 NC 组相比，OAM 组的 FRS2、LC3 和 p62 着色显著增强；与 NC 组相比，TNA 组的 FRS2、LC3 和 p62 着色也有所增强。相比

之下，TOAM 组 FRS2、LC3 和 p62 着色强度显著下降，与 NC 组接近。

四组免疫组化染色的图像 OD 值定量分析结果表 1。与 NC 组相比，OAM 组和 TNA 组的 FRS2、LC3 和 p62 染色的 OD 值均显著增加 ($P < 0.05$)；而

TOAM 组的 FRS2、LC3 和 p62 染色的 OD 值显著低于 OAM 组和 TNA 组 ($P>0.05$)。

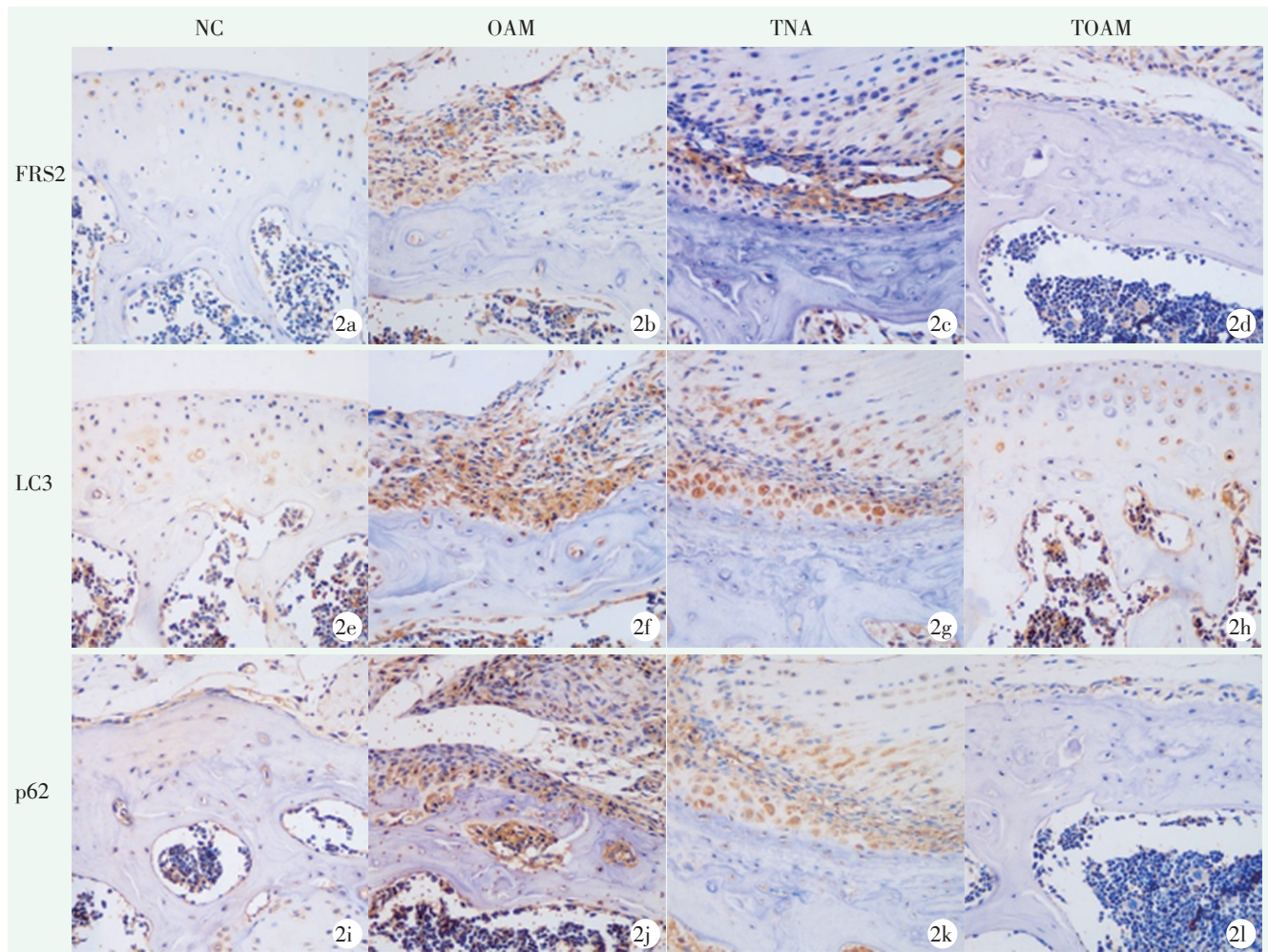


图 2 四组股骨远端骨软骨标本免疫组化染色所见 ($\times 400$) 2a~2d: 分别为 NC、OAM、TAN 和 TOAM 组的 FRS2 染色 2e~2h: 分别为 NC、OAM、TAN 和 TOAM 组的 LC3 染色 2i~2l: 分别为 NC、OAM、TAN 和 TOAM 组的 p62 染色

2.3 qPCR 与 Western blot 检测结果

qPCR 检测结果见表 1。与 NC 组相比, OAM 组的 miRNA-145 的 mRNA 表达水平显著下降 ($P<0.05$), 而体内转染后, TNA 组和 TOAM 的 miRNA-145 的 mRNA 表达水平显著高于 NC ($P<0.05$)。

Western blot 的检测结果见表 1, 电泳图见图 3。与 NC 组相比, OAM 组的 LC3II/I 比值降低, p62 表达水平显著升高 ($P<0.05$)。与 OAM 相相比, 转染后的 TNA 组和 TOAM 组 LC3II/I 比值升高, p62 表达水平降低; 其中 TOAM 组的 p62 的表达水平显著低于 OAM 组和 TNA 组 ($P<0.05$)。

3 讨论

OA 是较为常见的关节退行性疾病, 主要导致关节部位疼痛、肿胀甚至功能受限。然而, 现今 OA 的

治疗并不令人满意, 多种治疗措施仅限于对疼痛的处理。OA 的病理特征主要是关节软骨的磨损伴随着骨赘形成, 包括进行性软骨细胞凋亡和细胞外基质合成不足^[1, 8]。尽管已有几种分子机制来解释软骨退化的原因, 但目前可用的信息仍然有限, 依然没有有效的方法来预防或治疗 OA。

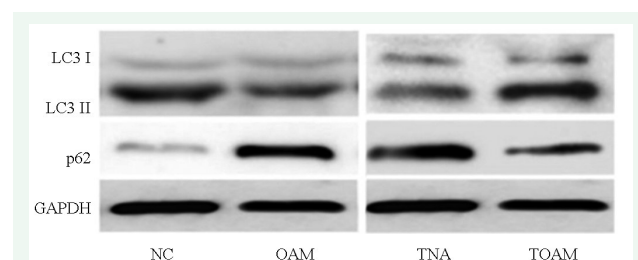


图 3 Western blot 检测 LC3 (I/II)、p62 的电泳结果图与 NC 组相比, OAM 组软骨的 LC3II/I 比值降低, p62 表达水平升高。而 TNA 组和 TOAM 组 LC3II/I 比值升高, p62 的表达水平有所降低

表 1 四组 qPCR 及 Western blot 检测结果 (n=10, $\bar{x} \pm s$) 与比较

指标	NC 组	OAM 组	TNA 组	TOAM 组	P 值
免疫组化 (OD×1000)					
FRS2	910.00±780.00	15 340.00±6 830.00	7 570.00±8 250.00	1 960.00±1 330.00	<0.001
LC3	2 730.00±1 780.00	19 610.00±7 370.00	18 040.00±17 920.00	4 452.00±1 460.00	0.018
p62	3 770.00±2 430.00	31 280.00±13 880.00	16 240.00±7 270.00	5 201.00±2 120.00	<0.001
PCR 检测 (CT 值)					
miR-145	1.00±0.04	0.31±0.13	3.16±0.14	4.01±0.04	<0.001
W-B 检测 (灰度值/100)					
LC3I	0.30±0.00	0.28±0.03	0.46±0.03	0.51±0.02	<0.001
LC3II	0.85±0.03	0.60±0.06	0.65±0.04	0.78±0.02	<0.001
p62	0.34±0.01	0.85±0.04	0.84±0.02	0.62±0.03	<0.001

microRNA (miRNA) 通过与靶 mRNA 的 3' 非翻译区相互作用并促进靶 mRNA 降解 (基因沉默) 来抑制转录或翻译 [9]。越来越多的证据表明, miRNA 的表达与 OA 发病机制之间存在相关性 [8]。既往研究报道 miR-145 通过靶向结合调控 MKK4、Smad3、Sox9 在 OA 中的表达 [9-13]。此外 miR-145 和炎性因子与 K-L 分级密切相关, 提示 miR-145 和炎性因子对判断骨关节炎的严重程度有一定价值, 可能成为今后骨关节炎诊断的潜在生物学标志物 [14]。发现降低的 NKILA 可以作为 CERNIA 促进 miR-145 的功能, 抑制 Sp1 的表达, 调节 NF-κB 信号通路, 从而促进组织炎症, 抑制软骨细胞的增殖和促进细胞凋亡 [9]。这可能是骨关节炎的一个有前途的预后标志和潜在的靶点。脂肪干细胞通过上调 miR-145 和 miR-221 促进软骨形成并抑制炎症 [11]。miR-145 通过直接抑制 MKK4 减轻肿瘤坏死因子-α 介导的骨关节炎软骨基质降解软骨代谢紊乱在骨关节炎发病机制中起重要作用 [15, 16]。成纤维细胞生长因子受体底物 (fibroblast growth factor receptor substrate 2, FRS2) 是重组蛋白质, 属于接头/支架蛋白质家族, 与多种疾病的不良结局相关 [17-19]。本课题组的前期体外研究表明, miR-145 通过抑制 FRS2 促进自噬, 提高软骨细胞抵抗氧化应激的能力, FRS2 的表达与自噬呈负相关 [20, 21]。本研究中, 与 NC 组相比, OAM 组 FRS2 表达显著升高 (P<0.001), 说明 OAM 组关节软骨自噬活性降低; 而体内转染 miR-145 后, FRS2 的表达则显著降低 (P<0.001), 说明 miR-145 下调 FRS2 的表达。

自噬是一个重要的稳态性过程, 通过分解作用来去除不必要或受损细胞的成分, 并提高细胞在应激条件下的存活率。研究显示, 在 OA 的进展中可以观察

到自噬相关基因 (autophagy related gene, ATGs) 的异常表达和自噬缺陷。自噬对关节软骨具有保护作用, 早期的 OA 中, 关节软骨细胞的自噬作用明显增强, 随着骨关节炎疾病的进展, 关节软骨细胞自噬作用水平逐渐降低, 在小鼠关节腔通过注射雷帕霉素提高小鼠软骨细胞自噬作用水平后, 小鼠的关节软骨退变程度有所缓解 [10, 22]。此外, 研究发现帕瑞昔布可通过提升软骨细胞自噬能力缓解 OA 大鼠的关节退变 [23]。自噬发生时, 自噬相关蛋白 LC3I 在酶的催化下转化为 LC3II, 因此 LC3II/I 比值的与自噬活性呈正相关。蛋白 p62 是自噬过程的受体蛋白之一, 通常作为底物在自噬过程被降解, 故 p62 的表达水平与自噬活性呈负相关 [24]。在本研究中, 与 NC 组比较, OAM 组小鼠自噬相关蛋白 LC3II/I 比值显著降低 (P<0.001), 蛋白 p62 水平显著升高 (P<0.001), 表明 OAM 组小鼠的关节软骨自噬受到抑制; 而体内转染 miR-145 后, 自噬相关蛋白 LC3II/I 比值显著升高 (P<0.001), 蛋白 p62 水平显著降低 (P<0.001), 表明 miR-145 对小鼠关节软骨的自噬有促进作用。

综上所述, miR-145 可通过抑制 FRS2 的表达从而提高软骨细胞自噬活性, 对 C57 小鼠骨关节炎的发生发展起到保护作用。

参考文献

- [1] Akkiraju H, Nohe A. Role of chondrocytes in cartilage formation, progression of osteoarthritis and cartilage regeneration [J]. J Dev Biol, 2015, 3 (4): 177-192.
- [2] 李兰, 梁明玮, 陆燕蓉, 等. miR-140 对早期骨关节炎软骨细胞衰老的调控作用及机制 [J]. 中国矫形外科杂志, 2020, 28 (3): 252-259.
- [3] 胡浩然, 谢雪涛, 张长青. 骨关节炎中软骨细胞自噬的研究进展 [J/CD]. 中华关节外科杂志 (电子版), 2018, 12 (6): 68-70.

- [4] Rockel JS, Kapoor M. Autophagy: controlling cell fate in rheumatic diseases [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12 (9): 517-531.
- [5] 王浩, 陈群超, 殷丽丽. 自噬在骨关节炎软骨细胞退变中表达的研究 [J]. *风湿病与关节炎*, 2021, 10 (4): 1-4, 31.
- [6] Wang BW, Jiang Y, Yao ZL, et al. Aucubin protects chondrocytes against IL-1 β -induced apoptosis in vitro and inhibits osteoarthritis in mice model [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 3529-3538.
- [7] Wang WF, Liu SY, Qi ZF, et al. MiR-145 targeting BNIP3 reduces apoptosis of chondrocytes in osteoarthritis through Notch signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24 (16): 8263-8272.
- [8] Cui X, Wang S, Cai H, et al. Overexpression of microRNA-634 suppresses survival and matrix synthesis of human osteoarthritis chondrocytes by targeting PIK3R1 [J]. *Sci Rep*, 2016, 6 (1): 23117.
- [9] Xue H, Yu P, Wang WZ, et al. The reduced lncRNA NKILA inhibited proliferation and promoted apoptosis of chondrocytes via miR-145/SP1/NF- κ B signaling in human osteoarthritis [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24 (2): 535-548.
- [10] Martinez SA, Dudek KF, Murphy CL. Regulation of human chondrocyte function through direct inhibition of cartilage master regulator SOX9 by microRNA-145 (miRNA-145) [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287 (2): 916-924.
- [11] Zhao C, Chen JY, Peng WM, et al. Exosomes from adipose-derived stem cells promote chondrogenesis and suppress inflammation by upregulating miR-145 and miR-221 [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21 (4): 1881-1889.
- [12] Martinez SA, Lazzarano S, Sharma E, et al. High-throughput identification of MiR-145 targets in human articular chondrocytes [J]. *Life (Basel)*, 2020, 20 (5): 58.
- [13] Zhou J, Sun J, Markova DZ, et al. MicroRNA-145 overexpression attenuates apoptosis and increases matrix synthesis in nucleus pulposus cells [J]. *Life Sci*, 2019, 221: 274-283.
- [14] Yang B, Kang X, Xing Y, et al. Effect of microRNA-145 on IL-1 β -induced cartilage degradation in human chondrocytes [J]. *FEBS Lett*, 2014, 588 (14): 2344-2352.
- [15] Hu G, Zhao X, Wang C, et al. MicroRNA-145 attenuates TNF- α -driven cartilage matrix degradation in osteoarthritis via direct suppression of MKK4 [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8 (10): e3140.
- [16] 朱丽璇, 崔玥, 罗静. 滑膜细胞炎性因子水平及 miR-145/MKK4 分子轴的关联性 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25 (14): 2199-2204.
- [17] Wu S, Ou T, Xing N, et al. Whole-genome sequencing identifies ADGRG6 enhancer mutations and FRS2 duplications as angiogenesis-related drivers in bladder cancer [J]. *Nat Commun*, 2019, 10 (1): 720.
- [18] 胡静雯, 杨欣, 王洁, 等. 微小 RNA-145 通过调控上皮细胞间质化抑制肺腺癌起始细胞的发生 [J]. *中华实验外科杂志*, 2013, 30 (3): 549-551.
- [19] Li JL, Luo P. MiR-140-5p and miR-92a-3p suppress the cell proliferation, migration and invasion and promoted apoptosis in Wilms' tumor by targeting FRS2 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24 (1): 97-108.
- [20] 杨飞, 王国栋, 黄蓉, 等. miRNA 在骨关节炎软骨细胞自噬中的调控作用 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2019, 27 (19): 1777-1780.
- [21] Wang GD, Zhao XW, Zhang YG, et al. Effects of miR-145 on the inhibition of chondrocyte proliferation and fibrosis by targeting TNFRSF11B in human osteoarthritis [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15 (1): 75-80.
- [22] Verbus EA, Kenyon JD, Sergeeva O, et al. Expression of miR-145-5p during chondrogenesis of mesenchymal stem cells [J]. *J Stem Cell Res (Overl Park)*, 2017, 1 (3): 1-10.
- [23] 钟培瑞, 周君, 廖源, 等. 帕瑞昔布对膝关节炎大鼠关节软骨及软骨下骨的影响 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2019, 27 (15): 1404-1409.
- [24] 孙明帅, 范重山, 李凯杰, 等. 骨关节炎中软骨细胞自噬的作用及其靶向治疗 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25 (35): 5688-5693.

(收稿:2021-09-01 修回:2022-05-25)
(同行评议专家: 秦宏敏 李 丹)
(本文编辑: 宁 桦)