

共培养条件下肌卫星细胞 C2C12 对软骨细胞 ATDC5 活性的影响

陈泽华¹, 王毅², 申震³, 李俊毅², 欧梁⁴

- (1. 株洲市中医伤科医院, 湖南 株洲 412007;
2. 广州中医药大学第五临床医学院, 广东 广州 510095;
3. 昆明市中医医院, 云南 昆明 650599;
4. 湖南省中医药研究院, 湖南 长沙 410006)

摘要 目的: 观察共培养条件下肌卫星细胞 C2C12 对软骨细胞 ATDC5 活性的影响。方法: ①将肌卫星细胞 C2C12 分为对照组和地塞米松组, 对照组常规培养, 地塞米松组采用地塞米松干预, 通过 CCK8 法和 BCA 法测定地塞米松对 C2C12 细胞增殖和蛋白合成的影响, 以划痕实验和 Transwell 小室观察地塞米松对 C2C12 细胞修复和迁移能力的影响。②采用 Transwell 小室将正常肌卫星细胞 C2C12 (共培养组) 和经地塞米松预处理的肌卫星细胞 C2C12 (预处理组) 分别与软骨细胞 ATDC5 共培养, 对照组 Transwell 下层小室内接种 ATDC5 细胞、上层小室内为无细胞的常规培养基, 采用 CCK8 法和二氯二氢荧光素-乙酰乙酸酯荧光探针检测 ATDC5 细胞增殖率和细胞内活性氧含量。结果: ①C2C12 细胞增殖率和蛋白含量测定结果。地塞米松组 C2C12 细胞增殖率和蛋白含量均低于对照组 [(78.402 ± 5.401)%, (100.000 ± 3.096)%, $t = 8.498$, $P = 0.000$; (5080.367 ± 296.657) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, (5775.577 ± 150.476) $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $t = 3.620$, $P = 0.022$]。②C2C12 细胞伤口修复率测定结果。地塞米松组 C2C12 细胞伤口修复率低于对照组 [(53.173 ± 1.800)%, (79.979 ± 10.176)%, $t = 4.493$, $P = 0.011$]。③C2C12 细胞迁移数量测定结果。培养 24 h 和 48 h 时, 地塞米松组 C2C12 细胞迁移数量均少于对照组 [24 h: (24.200 ± 5.630) 个, (57.000 ± 2.449) 个, $t = 11.945$, $P = 0.000$; 48 h: (57.600 ± 8.820) 个, (91.000 ± 4.743) 个, $t = 7.457$, $P = 0.000$]。④ATDC5 细胞增殖率测定结果。3 组 ATDC5 细胞增殖率比较, 差异有统计学意义 [(100.000 ± 1.663)%, (116.894 ± 7.917)%, (89.130 ± 2.980)%, $F = 23.700$, $P = 0.001$]。对照组和共培养组 ATDC5 细胞增殖率均高于预处理组 ($P = 0.037$, $P = 0.006$), 共培养组 ATDC5 细胞增殖率高于对照组 ($P = 0.001$)。⑤ATDC5 细胞内活性氧含量测定结果。3 组 ATDC5 细胞内活性氧含量比较, 差异有统计学意义 (20.148 ± 5.636, 13.959 ± 4.110, 40.691 ± 3.146, $F = 30.096$, $P = 0.001$)。预处理组 ATDC5 细胞内活性氧含量高于对照组和共培养组 ($P = 0.001$, $P = 0.000$), 对照组和共培养组 ATDC5 细胞内活性氧含量的差异无统计学意义 ($P = 0.137$)。结论: 地塞米松可抑制肌卫星细胞 C2C12 增殖, 应用地塞米松干预肌卫星细胞 C2C12 可体外模拟肌肉萎缩条件下肌卫星细胞的生长状态。正常状态下, 肌卫星细胞 C2C12 的代谢产物可促进软骨细胞 ATDC5 增殖; 肌卫星细胞 C2C12 活力降低, 可抑制软骨细胞 ATDC5 增殖, 同时会增加软骨细胞 ATDC5 氧化性损伤。

关键词 卫星细胞; 骨骼肌; 软骨细胞; 骨关节炎; 肌萎缩; 共同培养技术

Effect of skeletal muscle satellite cells C2C12 on the activity of chondrocytes ATDC5 in the co-cultured condition

CHEN Zehua¹, WANG Yi², SHEN Zhen³, LI Junyi², OU Liang⁴

1. The Orthopedics Hospital of Traditional Chinese Medicine Zhuzhou city, Zhuzhou 412007, Hunan, China
2. The Fifth Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510095, Guangdong, China
3. Kunming Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650599, Yunnan, China
4. Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, Hunan, China

ABSTRACT Objective: To observe the effect of skeletal muscle satellite cells (MuSCs) C2C12 on the activity of chondrocytes ATDC5 in the case of co-cultured condition. **Methods:** ①The C2C12 cells were cultured, and the third-generation cells were collected and divided into

基金项目: 湖南省中医药科研课题 (B2023153); 贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题 (QZYY-2019-031)

通讯作者: 陈泽华 E-mail: 630327511@qq.com

control group and dexamethasone (DEX) group. The C2C12 cells in the control group were cultured in the conventional Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), while the ones in DEX group were intervened with DEX. After that, the effects of DEX on proliferation and protein synthesis in C2C12 cells were determined by using the cell counting kit-8 (CCK8) assay and bicinchoninic acid (BCA) assay, respectively, meanwhile, the wound scratch assay and Transwell chamber were employed for observing the effects of DEX on repairing and migration ability of C2C12 cells. ②The normal C2C12 cells (co-cultured group) and DEX-pretreated C2C12 cells (pre-treatment group) were co-cultured with ATDC5 chondrocytes, respectively, in the Transwell chambers; In the Transwell chamber of control group, the upper chamber was the cells-free conventional culture medium, and the lower was inoculated with ATDC5 cells. After that, the proliferation rate and intracellular reactive oxygen species (ROS) level of ATDC5 cells were detected by using CCK8 assay and 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) fluorescent probe, respectively. **Results:** ①The proliferation rate and protein level of C2C12 cells were lower in DEX group compared to control group (78.402 ± 5.401 vs $100.000 \pm 3.096\%$, $t = 8.498$, $P = 0.000$; 5080.367 ± 296.657 vs 5775.577 ± 150.476 $\mu\text{g/mL}$, $t = 3.620$, $P = 0.022$). ②The wound repairing rate of C2C12 cells was lower in DEX group in contrast to control group (53.173 ± 1.800 vs $79.979 \pm 10.176\%$, $t = 4.493$, $P = 0.011$). ③On hour 24 and 48, the number of migrated C2C12 cells was less in DEX group compared with that of control group (on hour 24: 24.200 ± 5.630 vs 57.000 ± 2.449 cells, $t = 11.945$, $P = 0.000$; on hour 48: 57.600 ± 8.820 vs 91.000 ± 4.743 cells, $t = 7.457$, $P = 0.000$). ④There was statistical difference in proliferation rate of ATDC5 cells among the 3 groups (100.000 ± 1.663 , 116.894 ± 7.917 , $89.130 \pm 2.980\%$, $F = 23.700$, $P = 0.001$). The proliferation rate of ATDC5 cells was higher in control group and co-cultured group compared to pre-treatment group ($P = 0.037$, $P = 0.006$), and was highest in co-cultured group ($P = 0.001$). ⑤There was statistical difference in intracellular ROS level of ATDC5 cells among the 3 groups (20.148 ± 5.636 , 13.959 ± 4.110 , 40.691 ± 3.146 , $F = 30.096$, $P = 0.001$). The intracellular ROS level of ATDC5 cells was higher in pre-treatment group compared to control group and co-cultured group ($P = 0.001$, $P = 0.000$), while, the difference between control group and co-cultured group was not statistically significant ($P = 0.137$). **Conclusion:** DEX can inhibit the proliferation of C2C12 cells, and the growth state of MuSCs under the condition of muscle atrophy in vitro can be simulated by intervening C2C12 cells with DEX. In the case of normal conditions, the metabolic products of C2C12 cells can promote the proliferation of chondrocytes ATDC5, and the reduction in viability of C2C12 cells can inhibit the proliferation of chondrocytes ATDC5, as well as increase the oxidative damage to chondrocytes ATDC5.

Keywords satellite cells; skeletal muscle; chondrocytes; osteoarthritis; muscular atrophy; coculture techniques

肌卫星细胞是出生后肌肉组织中唯一一类具有分裂能力的肌肉源性干细胞, 可通过激活、增殖和分化, 参与肌肉再生、重塑和损伤修复^[1]。肌卫星细胞在正常情况下保持静止状态, 当骨骼肌受到损伤时, 肌卫星细胞被激活并增殖, 同时表达成肌调节因子, 加速其成肌分化, 形成新的肌细胞^[2]。肌卫星细胞的数量和功能是维持成人骨骼肌质量和功能的关键。肌卫星细胞数量减少和增殖、分化的可塑性下降是导致骨骼肌萎缩的重要原因, 同时肌卫星细胞数量减少也被认为是老年人骨骼肌衰减的重要原因^[3-4]。研究表明, 骨骼肌萎缩 (包括肌纤维变细和纤维数量减少) 与膝骨关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 的发生关系密切^[5-7]。与健康人群相比, KOA 患者股四头肌中肌卫星细胞密度下降, 肌纤维类型改变^[8]。肌卫星细胞数量减少会阻碍骨骼肌的再生和修复, 进一步加重骨骼肌萎缩。然而, 骨骼肌萎缩状态下肌卫星细胞增殖活力减弱, 是否会影响软骨细胞的活性, 目前还不得而知。为此, 本研究观察了共培养条件下肌卫星细

胞对软骨细胞活性的影响, 以期探索肌肉萎缩与 KOA 之间的关系, 以及通过改善肌肉萎缩治疗 KOA 提供依据。

1 材料和仪器

C2C12 小鼠成肌细胞、ATDC5 小鼠成软骨细胞系 (上海中乔新舟生物科技有限公司), 胎牛血清、青霉素-链霉素双抗溶液 (Gibco 公司), DMEM 高糖培养基 (Hyclone 公司), 孔径 $8\text{ }\mu\text{m}$ 和 $0.4\text{ }\mu\text{m}$ 的 24 孔 Transwell 小室 (Corning 公司), CCK8 试剂 (Biosharp 公司), 地塞米松磷酸钠注射液 (天津金耀药业有限公司), BCA 蛋白定量试剂盒 (Thermo Fisher Scientific 公司), 二氯二氢荧光素-乙酰乙酸酯 (2',7'-dichlorofluorescein diacetate, DCFH-DA) 活性氧荧光探针 (北京索莱宝科技有限公司), Varioskan 多功能酶标仪 (Thermo Fisher Scientific 公司), DMi8 荧光显微镜 (Leica 公司)。

2 方法

2.1 细胞传代培养

C2C12 细胞和 ATDC5 细胞均采用常规培养基

(4 mL 胎牛血清 + 400 μ L 青霉素-链霉素双抗溶液 + 35.6 mL DMEM 高糖培养基) 在 37 $^{\circ}$ C、CO₂ 体积分数 5% 的恒温细胞培养箱中培养, 隔天换液 1 次, 当细胞融合度达到 90% 时按 1:3 传代。取第 3 代细胞进行后续实验。

2.2 地塞米松对 C2C12 细胞活性影响的观察

2.2.1 地塞米松对 C2C12 细胞增殖的影响 取 C2C12 细胞, 按照每孔 5×10^3 个接种至 96 孔板中, 分为对照组和地塞米松组, 每组设 5 个复孔, 采用常规培养基培养(条件、方法同 2.1)。待细胞融合度达到 50% ~ 60% 时, 对照组继续以常规培养基培养, 地塞米松组改用地塞米松培养基培养(50 μ L 地塞米松磷酸钠注射液 + 48 mL 常规培养基)。继续培养 24 h 后, 2 组均改用检测培养基培养(每孔 90 μ L 常规培养基、10 μ L CCK8 试剂), 设置空白孔, 继续培养 1 h 后采用酶标仪测定 OD 值(波长为 460 nm)。细胞增殖率 = (地塞米松组 OD 值 - 空白孔 OD 值) / (对照组 OD 值 - 空白孔 OD 值) \times 100%。

2.2.2 地塞米松对 C2C12 细胞蛋白合成的影响 取 C2C12 细胞, 按照每孔 5×10^3 个接种至 6 孔板中, 分为对照组和地塞米松组, 每组设 3 个复孔, 采用常规培养基培养(条件、方法同 2.1)。待融合度达到 90% 时, 对照组继续以常规培养基培养, 地塞米松组改用地塞米松培养基培养。继续培养 24 h 后, 吸弃培养基, 用 PBS 漂洗 1 遍, 加入 100 μ L 裂解液(RIPA: PMSF = 100:1), 于冰上裂解 5 min, 刮下细胞转移至 1.5 mL EP 管中, 以 12 000 $r \cdot \min^{-1}$ 离心 10 min(离心半径 6 cm)。吸取上清液, 稀释 6 倍, 按照 BCA 试剂盒操作步骤, 在酶标仪中测定 OD 值(波长 562 nm)。根据标准品浓度计算公式计算样品的测定浓度, 测定浓度的 6 倍即为原液的蛋白含量。

2.2.3 地塞米松对 C2C12 细胞修复能力的影响 取 C2C12 细胞, 按照每孔 1×10^5 个接种至 24 孔板中, 分为对照组和地塞米松组, 每组设 3 个复孔, 采用常规培养基培养(条件、方法同 2.1)。待融合度达到 90% 时, 用 200 μ L 移液枪垂直划一条直线, 用 PBS 漂洗 2 次, 去除划下的细胞。对照组继续以常规培养基培养, 地塞米松组改用地塞米松培养基培养。24 h 后拍照观察, 采用 Image J 软件测量划痕面积, 计算细胞伤口修复率, 修复率 = (初始面积 - 24 h 面积) / 初始面积 \times 100%。

2.2.4 地塞米松对 C2C12 细胞迁移能力的影响 将

孔径为 8 μ m 的 Transwell 小室置于 24 孔板中, 采用不含胎牛血清的 DMEM 高糖培养基将 C2C12 细胞重悬, 调整密度, 接种至上层小室内(200 μ L, 约 1×10^5 个), 分为对照组和地塞米松组, 每组设 5 个复孔。对照组下层小室内加入 600 μ L 常规培养基, 地塞米松组下层小室内加入 600 μ L 地塞米松培养基。分别于 24 h 和 48 h 后, 吸弃下层小室的培养基, 用 4% 多聚甲醛室温固定 15 min, PBS 漂洗 3 遍, 0.1% 的结晶紫室温染色 10 min, 再用 PBS 漂洗 3 遍, 镜下每孔随机选取 5 个视野拍照, 计算每个视野内的细胞数量。

2.3 与 C2C12 细胞共培养对 ATDC5 细胞活性影响的观察

2.3.1 与 C2C12 细胞共培养对 ATDC5 细胞增殖的影响 采用孔径为 0.4 μ m 的 Transwell 小室对 C2C12 细胞和 ATDC5 细胞进行共培养。分 3 组, 每组设 3 个复孔。共培养组和预处理组上层小室内接种 C2C12 细胞(200 μ L, 约 1×10^5 个), 分别以常规培养基和地塞米松培养基培养, 培养 24 h 后弃去培养基, 用 PBS 漂洗 2 次, 然后将 Transwell 小室转移至接种 ATDC5 细胞(600 μ L, 约 2×10^5 个)的培养孔中; 对照组上层小室内为无细胞的常规培养基。上下层小室内细胞均以常规培养基继续培养 24 h 后, 采用 CCK8 法检测各组下层小室内 ATDC5 细胞增殖率, 方法同 2.2.1。

2.3.2 与 C2C12 细胞共培养对 ATDC5 细胞内活性氧含量的影响 细胞分组、培养方法同 2.3.1。共培养 24 h 后, 吸弃下层小室内的培养基, 每孔加入 400 μ L 现配制的 DCFH-DA 试剂(用 PBS 稀释 1000 倍), 避光培养 30 min 后置于荧光显微镜下观察拍照, 用 Image J 软件分析比较各组的荧光强度。

2.4 数据统计

采用 SPSS25.0 软件进行数据统计分析。地塞米松组和对照组 C2C12 细胞增殖率、蛋白含量、伤口修复率、细胞迁移数量的组间比较均采用独立样本 t 检验; 对照组、共培养组、预处理组 ATDC5 细胞增殖率、细胞内活性氧含量的总体比较均采用单因素方差分析, 组间两两比较均采用 LSD- t 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

3 结果

3.1 地塞米松干预后 C2C12 细胞增殖率和蛋白含量测定结果

地塞米松组 C2C12 细胞增殖率和蛋白含量均低

于对照组 $[(78.402 \pm 5.401)\%, (100.000 \pm 3.096)\%, t = 8.498, P = 0.000; (5080.367 \pm 296.657) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}, (5775.577 \pm 150.476) \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}, t = 3.620, P = 0.022]$ 。

3.2 地塞米松干预后 C2C12 细胞伤口修复率测定结果

与对照组相比,地塞米松组 C2C12 细胞的修复能力下降(图 1)。地塞米松组 C2C12 细胞的 24 h 伤口修复率低于对照组 $[(53.173 \pm 1.800)\%, (79.979 \pm 10.176)\%, t = 4.493, P = 0.011]$ 。

3.3 地塞米松干预后 C2C12 细胞迁移数量测定结果

培养 24 h 和 48 h 时,地塞米松组 C2C12 细胞迁移数量均少于对照组 [24 h: (24.200 ± 5.630) 个, (57.000 ± 2.449) 个, $t = 11.945, P = 0.000$; 48 h: (57.600 ± 8.820) 个, (91.000 ± 4.743) 个, $t = 7.457, P = 0.000$]。见图 2。

3.4 与 C2C12 细胞共培养条件下 ATDC5 细胞增殖率测定结果

3 组 ATDC5 细胞增殖率比较,差异有统计学意义。对照组和共培养组 ATDC5 细胞增殖率均高于预处理组 ($P = 0.037, P = 0.006$),共培养组 ATDC5 细

胞增殖率高于对照组 ($P = 0.001$)。见表 1。

3.5 与 C2C12 细胞共培养条件下 ATDC5 细胞内活性氧含量测定结果

3 组 ATDC5 细胞内活性氧含量比较,差异有统计学意义。预处理组 ATDC5 细胞内活性氧含量高于对照组和共培养组 ($P = 0.001, P = 0.000$),对照组和共培养组 ATDC5 细胞内活性氧含量的差异无统计学意义 ($P = 0.137$)。见图 3、表 1。

4 讨论

肌卫星细胞的激活、增殖、分化对维持出生后骨骼肌结构与功能起着至关重要的作用。当肌卫星细胞数量减少时,骨骼肌的再生和修复能力下降,其生成和降解平衡遭到破坏,从而导致骨骼肌萎缩。骨骼肌中的肌动蛋白在分子水平上与软骨及骨相互作用,与 KOA 的发病密切相关^[9]。由此可见,“肌肉-软骨”在细胞分子水平的交互作用可能是影响 KOA 发生、发展的重要原因。

本研究发现,地塞米松可抑制肌卫星细胞增殖和蛋白合成,并能抑制肌卫星细胞的修复和迁移。可见,采用地塞米松对肌卫星细胞进行干预,可体外模拟肌萎缩条件下肌卫星细胞的生长状态。地塞米松

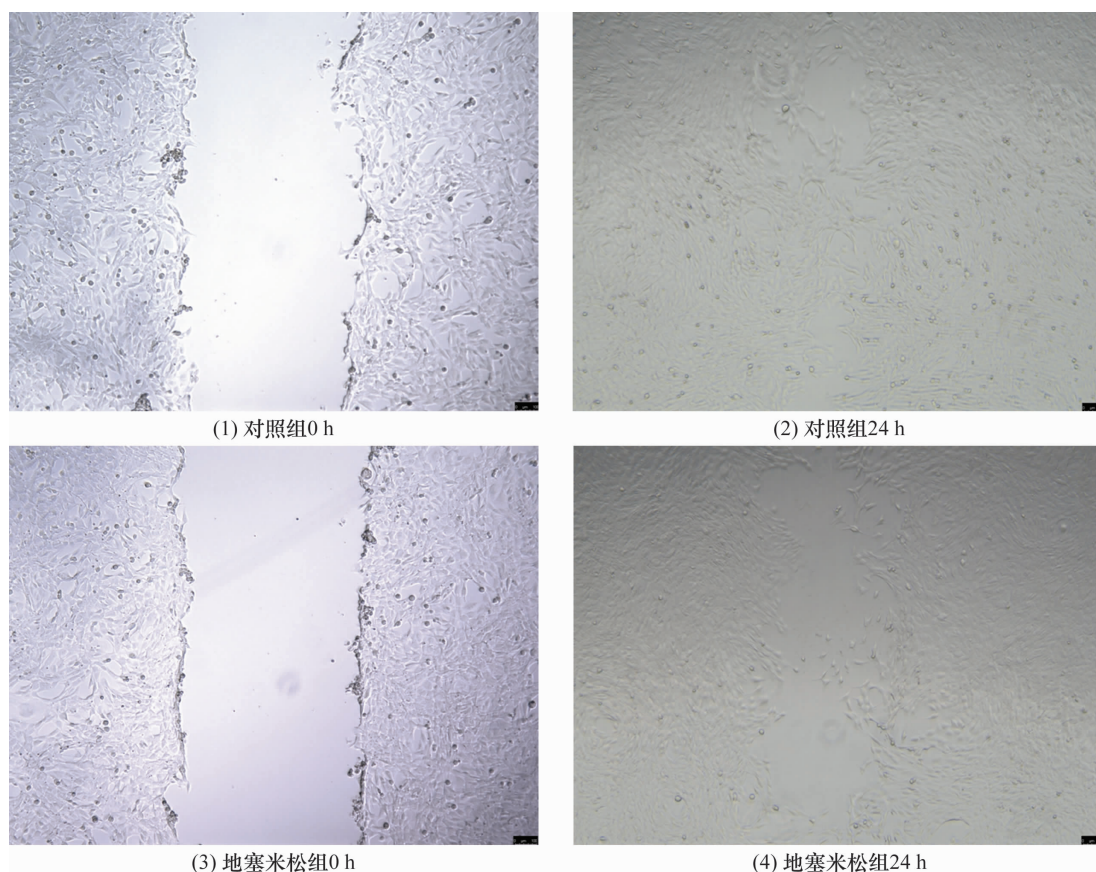


图 1 2 组 C2C12 细胞 24 h 修复结果

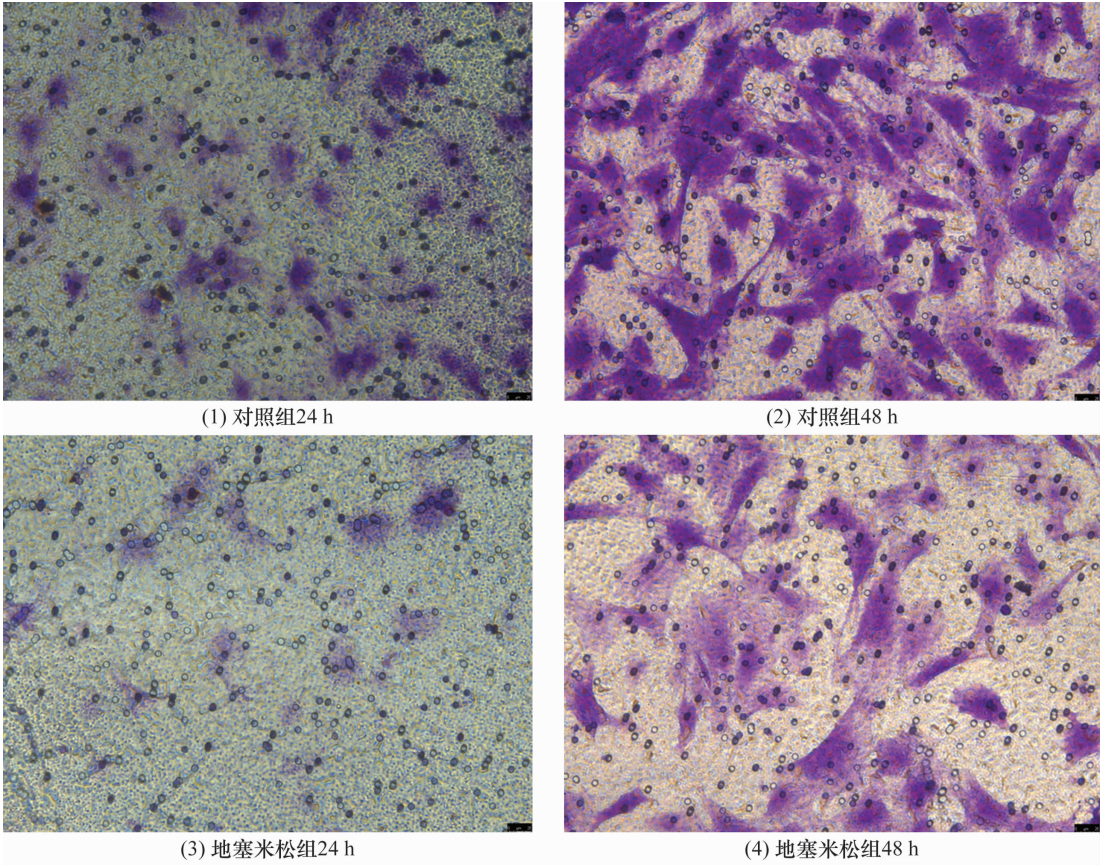


图2 2组C2C12细胞24 h和48 h迁移结果(结晶紫染色 ×400)

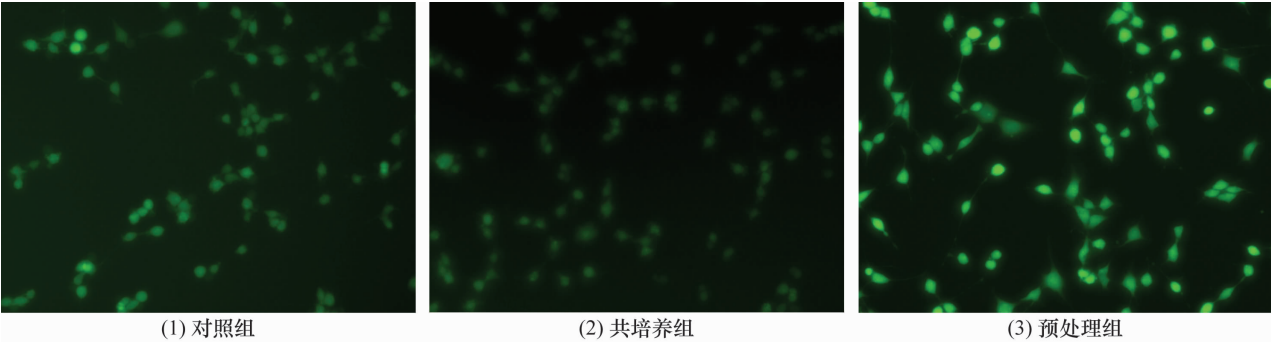


图3 3组与C2C12细胞共培养的ATDC5细胞二氯二氢荧光素-乙酰乙酸酯活性氧荧光染色结果(×200)

表1 与C2C12细胞共培养条件下ATDC5细胞增殖率和细胞内活性氧含量

组别	样本量/孔	细胞增殖率/($\bar{x} \pm s, \%$)	细胞内活性氧含量($\bar{x} \pm s$)
对照组	3	100.000 ± 1.663	20.148 ± 5.636
共培养组	3	116.894 ± 7.917	13.959 ± 4.110
预处理组	3	89.130 ± 2.980	40.691 ± 3.146
F值		23.700	30.096
P值		0.001	0.001

抑制肌卫星细胞增殖,也可能是其引起骨骼肌萎缩的重要原因。糖皮质激素对分解代谢有促进作用,可通过减少蛋白质合成和增加蛋白质降解,使肌纤维尺寸缩小、Ⅱ型纤维选择性萎缩,诱导骨骼肌萎缩,并能引起骨骼肌内脂肪堆积,降低肌肉质量,促进肌少症的发生^[10]。地塞米松诱导的肌少症与增龄性肌少症都

有肌肉量减少,肌力降低,肌纤维蛋白合成减少、分解加快,肌纤维再生能力消失等特点,二者在病理特点上具有较高的相似性,因此地塞米松常被用于肌少症动物模型的构建^[11]。同时,采用地塞米松对体外培养且分化成熟的成肌细胞进行干预,可使肌管横径减小,形成肌肉萎缩,这一方法被用于肌肉萎缩的体外

细胞建模^[12-13]。然而,也有研究发现,地塞米松可促进肌卫星细胞分化,增加肌管的横径和面积^[14]。这可能与该研究中使用的地塞米松浓度较低($5 \sim 25 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)及干预时间点(肌卫星细胞分化前)不同有关。这说明地塞米松对肌卫星细胞活性的调节作用对药物浓度和干预时间点具有依赖性。

为进一步研究“肌肉-软骨”在细胞水平的相互作用对 KOA 的影响,本研究构建了肌卫星细胞-软骨细胞共培养体系。研究结果发现,正常状态下,肌卫星细胞与软骨细胞间接共培养时,可促进软骨细胞增殖,这可能与肌卫星细胞产生的代谢产物能影响软骨细胞活性有关。国外研究表明,与肌细胞或肌细胞条件培养基共同培养的软骨细胞对白细胞介素-1 β 和肿瘤坏死因子 α 诱导的软骨损伤的抵抗作用增强,且肌细胞释放的细胞因子和生长因子可促进软骨细胞生成胰岛素样生长因子 1,调节软骨发育^[15];在肌细胞条件培养基中培养,能减轻炎症诱导对人骨髓间充质干细胞来源的软骨细胞的损伤^[16]。此外,肌细胞和软骨细胞共培养条件下,II 型和 IX 型胶原的表达也明显增强^[17]。可见,正常状态下,肌肉组织中的肌细胞和肌卫星细胞均可对软骨细胞有正向调节作用。同时,本研究还发现,与正常肌细胞共培养的软骨细胞中的活性氧含量明显下降。这可能与肌卫星细胞可增强软骨细胞对损伤的防御作用及减轻软骨损害有关。当活力降低的肌卫星细胞与软骨细胞共培养时,会明显抑制软骨细胞增殖,同时会明显提高软骨细胞中活性氧的水平,增加软骨细胞氧化性损伤。可见,骨骼肌萎缩状态下肌卫星细胞活性降低,可通过“肌肉-软骨”之间的细胞耦合作用加速软骨退变,抑制软骨细胞增殖,并加重其氧化性损伤,从而导致 KOA 的发生和发展。有研究发现,血管中骨骼肌中免疫细胞释放的细胞因子能减轻关节软骨损伤^[18]。由此可见,肌肉组织中细胞产生的生物化学物质可随血液流动至关节。通过调节肌肉萎缩可影响关节软骨的合成与代谢,进而影响 KOA 的发病及病理进程。从本研究的结果来看,“肌肉-软骨”之间可能存在细胞水平的耦合作用,正常状态下肌细胞对软骨细胞具有促增殖作用,维持肌肉的健康状态对关节软骨有保护作用;当肌肉发生萎缩时,肌卫星细胞活性下降,会降低软骨细胞活力,加重软骨细胞损伤。因此,防治骨骼肌萎缩对保护关节软骨至关重要。

本研究的结果提示,地塞米松可抑制肌卫星细胞 C2C12 增殖,应用地塞米松干预肌卫星细胞 C2C12 可体外模拟肌肉萎缩条件下肌卫星细胞的生长状态。正常状态下,肌卫星细胞 C2C12 的代谢产物可促进软骨细胞 ATDC5 增殖;肌卫星细胞 C2C12 活力降低,可抑制软骨细胞 ATDC5 增殖,同时会增加软骨细胞 ATDC5 氧化性损伤。

参考文献

- [1] COLLAO N, AKOHENE-MENSAH P, NALLABELLI J, et al. The role of L-type amino acid transporter 1 (Slc7a5) during in vitro myogenesis[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2022, 323(2): C595 - C605.
- [2] 陈晓萍, 范明. 肌卫星细胞研究进展[J]. 生理科学进展, 2003, 34(2): 136 - 139.
- [3] 李景龙, 刘红菊, 王飞, 等. 肌卫星细胞在失重肌萎缩中的可塑性变化及机制[J]. 生物化学与生物物理进展, 2016, 43(6): 607 - 615.
- [4] 王震, 蔺海旗, 何霏, 等. 运动激活骨骼肌卫星细胞: 增龄性肌衰减症及肌肉损伤修复的运动预防和治疗[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(23): 3752 - 3759.
- [5] IKEDA S, TSUMURA H, TORISU T. Age-related quadriceps-dominant muscle atrophy and incident radiographic knee osteoarthritis[J]. J Orthop Sci, 2005, 10(2): 121 - 126.
- [6] KRISHNASAMY P, HALL M, ROBBINS S R. The role of skeletal muscle in the pathophysiology and management of knee osteoarthritis[J]. Rheumatology (Oxford), 2018, 57(suppl 4): iv22 - iv33.
- [7] SHORTER E, SANNICANDRO A J, POULET B, et al. Skeletal muscle wasting and its relationship with osteoarthritis: a mini-review of mechanisms and current interventions[J]. Curr Rheumatol Rep, 2019, 21(8): 40.
- [8] NOEHREN B, KOSMAC K, WALTON R G, et al. Alterations in quadriceps muscle cellular and molecular properties in adults with moderate knee osteoarthritis[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2018, 26(10): 1359 - 1368.
- [9] LAURENT M R, DUBOIS V, CLAESSENS F, et al. Muscle-bone interactions: from experimental models to the clinic? A critical update[J]. Mol Cell Endocrinol, 2016, 432: 14 - 36.
- [10] 黄蓓, 刘隆福, 蒋铁建. 糖皮质激素与肌少症[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2020, 13(5): 486 - 492.
- [11] 王丛丛, 李军, 鲁飞翔, 等. 尿石素 B 对地塞米松诱导小鼠肌萎缩的改善作用及机制[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(8): 1963 - 1966. (下转第 31 页)

- Food, 2017, 20(12): 1193 – 1200.
- [14] ZHANG H F, WANG Y L, GAO C, et al. Salvianolic acid A attenuates kidney injury and inflammation by inhibiting NF-kappaB and p38 MAPK signaling pathways in 5/6 nephrectomized rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39 (12): 1855 – 1864.
- [15] MA M, TAN Z, LI W, et al. Osteoimmunology and osteonecrosis of the femoral head [J]. *Bone Joint Res*, 2022, 11(1): 26 – 28.
- [16] MA M, TAN Z, LI W, et al. Infographic: osteoimmunology mechanism of osteonecrosis of the femoral head [J]. *Bone Joint Res*, 2022, 11(1): 29 – 31.
- [17] WU X, FENG X, HE Y, et al. IL-4 administration exerts preventive effects via suppression of underlying inflammation and TNF-alpha-induced apoptosis in steroid-induced osteonecrosis [J]. *Osteoporos Int*, 2016, 27 (5): 1827 – 1837.
- [18] JIN T, ZHANG Y, SUN Y, et al. IL-4 gene polymorphisms and their relation to steroid-induced osteonecrosis of the femoral head in Chinese population [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2019, 7(3): e563.
- [19] WU X, XU W, FENG X, et al. TNF-a mediated inflammatory macrophage polarization contributes to the pathogenesis of steroid-induced osteonecrosis in mice [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2015, 28(3): 351 – 361.
- [20] ZHENG J, YAO Z, XUE L, et al. The role of immune cells in modulating chronic inflammation and osteonecrosis [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1064245.
- [21] JIANG C, ZHOU Z, LIN Y, et al. Astragaloside IV ameliorates steroid-induced osteonecrosis of the femoral head by repolarizing the phenotype of pro-inflammatory macrophages [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 93: 107345.
- [22] JIN S, MENG C, HE Y, et al. Curcumin prevents osteocyte apoptosis by inhibiting M1-type macrophage polarization in mice model of glucocorticoid-associated osteonecrosis of the femoral head [J]. *J Orthop Res*, 2020, 38 (9): 2020 – 2030.
- [23] TIAN G, LIU C, GONG Q, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells improve the necrosis and osteocyte apoptosis in glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head model through reducing the macrophage polarization [J]. *Int J Stem Cells*, 2022, 15(2): 195 – 202.
- [24] WANG Y, WANG K, BAO Y, et al. The serum soluble Klotho alleviates cardiac aging and regulates M2a/M2c macrophage polarization via inhibiting TLR4/Myd88/NF-kappaB pathway [J]. *Tissue Cell*, 2022, 76: 101812.
- [25] CIRMI S, MAUGERI A, RUSSO C, et al. Oleacein attenuates lipopolysaccharide-induced inflammation in THP-1-derived macrophages by the inhibition of TLR4/MyD88/NF-kappaB pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1206.
- [26] ADAPALA N S, YAMAGUCHI R, PHIPPS M, et al. Necrotic bone stimulates proinflammatory responses in macrophages through the activation of Toll-like receptor 4 [J]. *Am J Pathol*, 2016, 186(11): 2987 – 2999.
- [27] ZHU D, YU H, LIU P, et al. Calycosin modulates inflammation via suppressing TLR4/NF-kappaB pathway and promotes bone formation to ameliorate glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head in rat [J]. *Phytother Res*, 2021, 35(5): 2824 – 2835.

(收稿日期: 2023-10-30 本文编辑: 吕宁)

(上接第 22 页)

- [12] SHEN S, LIAO Q, LIU J, et al. Myricanol rescues dexamethasone-induced muscle dysfunction via a sirtuin 1-dependent mechanism [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2019, 10(2): 429 – 444.
- [13] CHANG J S, KONG I D. Irisin prevents dexamethasone-induced atrophy in C2C12 myotubes [J]. *Pflugers Arch*, 2020, 472(4): 495 – 502.
- [14] LARSON A A, SYVERUD B C, FLORIDA S E, et al. Effects of dexamethasone dose and timing on tissue-engineered skeletal muscle units [J]. *Cells Tissues Organs*, 2018, 205(4): 197 – 207.
- [15] CAIRNS D M, UCHIMURA T, KWON H, et al. Muscle cells enhance resistance to pro-inflammatory cytokine-induced cartilage destruction [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 392(1): 22 – 28.
- [16] CAIRNS D M, LEE P G, UCHIMURA T, et al. The role of muscle cells in regulating cartilage matrix production [J]. *J Orthop Res*, 2010, 28(4): 529 – 536.
- [17] RAINBOW R S, KWON H, FOOTE A T, et al. Muscle cell-derived factors inhibit inflammatory stimuli-induced damage in hMSC-derived chondrocytes [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(7): 990 – 998.
- [18] PEAKE J M, DELLA GATTA P, SUZUKI K, et al. Cytokine expression and secretion by skeletal muscle cells: regulatory mechanisms and exercise effects [J]. *Exerc Immunol Rev*, 2015, 21: 8 – 25.

(收稿日期: 2023-01-02 本文编辑: 李晓乐)