

# LncRNA SNHG3/miR-423-5p对IL-1 $\beta$ 诱导的 骨关节炎软骨细胞损伤的影响

林绪超 何文\*

(福州市第二医院骨科, 福州 350007)

**摘要** 该文旨在探讨lncRNA SNHG3/miR-423-5p轴对白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )诱导的骨关节炎软骨细胞损伤的影响。IL-1 $\beta$ 诱导软骨细胞建立细胞损伤模型, 将si-NC、si-SNHG3、miR-NC、miR-423-5p mimics分别转染至软骨细胞后加入10  $\mu$ g/L IL-1 $\beta$ 处理24 h, 将si-SNHG3和anti-miR-NC、si-SNHG3和anti-miR-423-5p分别共转染至软骨细胞后加入10  $\mu$ g/L IL-1 $\beta$ 处理24 h; MTT法、流式细胞术分别检测细胞增殖及凋亡情况; ELISA法检测IL-6、IL-8、IL-10的水平; 双荧光素酶报告实验检测SNHG3与miR-423-5p的靶向关系; Western blot检测Bax、Bcl-2蛋白表达量。IL-1 $\beta$ 诱导的软骨细胞中SNHG3的表达量升高( $P<0.05$ ), miR-423-5p的表达量降低( $P<0.05$ ); 转染si-SNHG3或转染miR-423-5p mimics后细胞增殖抑制率、细胞凋亡率和Bax蛋白水平降低( $P<0.05$ ), IL-6、IL-8的水平降低( $P<0.05$ ), IL-10的水平和Bcl-2蛋白水平升高( $P<0.05$ ); SNHG3可靶向结合miR-423-5p; 转染anti-miR-423-5p可以逆转由si-SNHG3引起的细胞生长加快、炎症因子水平降低、IL-10浓度降低和Bcl-2蛋白水平降低( $P<0.05$ )。沉默SNHG3可通过负向调控miR-423-5p表达而促进细胞增殖以及抑制细胞凋亡、炎症反应从而减轻IL-1 $\beta$ 诱导的软骨细胞损伤。

**关键词** 骨关节炎; 软骨细胞; lncRNA SNHG3; miR-423-5p; 细胞增殖; 凋亡; 炎症

## Effect of LncRNA SNHG3/miR-423-5p on IL-1 $\beta$ -Induced Osteoarthritis Chondrocyte Damage

LIN Xuchao, HE Wen\*

(Department of Orthopaedics, Fuzhou Second Hospital, Fuzhou 350007, China)

**Abstract** This study was aimed to explore the effect of lncRNA SNHG3 on IL-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ )-induced osteoarthritis chondrocyte damage and its possible mechanism. A cell injury model was established by exposing chondrocytes to IL-1 $\beta$ . si-NC, si-SNHG3, miR-NC, miR-423-5p mimics were transfected into chondrocytes and treated with 10  $\mu$ g/L IL-1 $\beta$  for 24 h. si-SNHG3 and anti-miR-NC, si-SNHG3 and anti-miR-423-5p were co-transfected into chondrocytes and treated with 10  $\mu$ g/L IL-1 $\beta$  for 24 h. MTT method and flow cytometry were used to detect cell proliferation and apoptosis, respectively. ELISA method was used to detect the levels of IL-6, IL-8 and IL-10. The dual luciferase reporter experiment was used to detect the targeting relationship between SNHG3 and miR-423-5p; Western blot detects the protein expression of Bax and Bcl-2. The expression of SNHG3 in IL-1 $\beta$ -induced chondrocytes was increased ( $P<0.05$ ), while the expression of miR-423-5p was decreased ( $P<0.05$ ). After transfection with si-SNHG3 or miR-423-5p mimics, the cell proliferation inhibition rate, apoptosis rate and Bax content were decreased ( $P<0.05$ ),

收稿日期: 2023-06-29

接受日期: 2023-08-04

福建省创伤骨科急救与康复临床医学研究中心(批准号: 2020Y2014)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 13655041276, E-mail: 93864669@qq.com

Received: June 29, 2023

Accepted: August 4, 2023

This work was supported by the Fujian Provincial Clinical Medical Research Center for First Aid and Rehabilitation in Orthopaedic Trauma (Grant No.2020Y2014)

\*Corresponding author. Tel: +86-13655041276, E-mail: 93864669@qq.com

and the levels of IL-6 and IL-8 were decreased ( $P<0.05$ ), while IL-10 level and Bcl-2 content were increased ( $P<0.05$ ). SNHG3 could target miR-423-5p. Anti-miR-423-5p reversed the effects of si-SNHG3 on cells including increased growth, reduced levels of inflammatory factors, decreased IL-10 concentration, and decreased Bcl-2 protein levels ( $P<0.05$ ). Silencing SNHG3 could negatively regulate the expression of miR-423-5p to promote cell proliferation and inhibit cell apoptosis and inflammation, thereby reducing IL-1 $\beta$ -induced chondrocyte damage.

**Keywords** osteoarthritis; chondrocytes; lncRNA SNHG3; miR-423-5p; cell proliferation; apoptosis; inflammation

骨关节炎是最常见的关节炎形式, 主要病理特征为关节内的软骨发生退行性病变, 可改变骨骼形状并引起炎症, 导致骨关节疼痛、僵硬及活动能力丧失, 对关节的损害是不可逆的<sup>[1-2]</sup>。长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是长度超过200个核苷酸的分子, 与细胞生长、分化和衰老密切相关, 能够调节软骨细胞增殖、凋亡、炎症反应和细胞外基质降解等过程<sup>[3]</sup>。SNHG3是一种lncRNA。研究表明, SNHG3在脑缺血再灌注损伤中表达水平升高, 敲低其表达可缓解脑缺血再灌注损伤<sup>[4]</sup>。SNHG3能够调控成骨细胞分化<sup>[5]</sup>, 骨肉瘤细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭<sup>[6]</sup>。但SNHG3与骨关节炎的相关性还没有被报道。LncRNA可通过竞争性结合微小RNA(microRNA, miRNA)参与骨关节炎发生发展<sup>[7-8]</sup>。miR-423-5p作为一种miRNA, 能够通过结合lncRNA LOXL1-AS1而参与骨关节炎疾病的调控进程<sup>[9]</sup>。但SNHG3和miR-423-5p在骨关节炎发生及发展中的联系尚未可知。本研究采用白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )诱导的软骨细胞建立体外骨关节炎细胞模型, 探讨SNHG3和miR-423-5p在软骨细胞损伤过程中的作用及相关性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

人软骨细胞系(CHON-001)购自美国Cell Applications公司; 重组人IL-1 $\beta$ 购自北京沃卡威生物技术有限公司; Lipofectamine 2000购自美国Invitrogen公司; Trizol试剂购自美国ThermoFisher公司; 反转录与荧光定量PCR试剂购自天根生化科技(北京)有限公司; si-NC、si-SNHG3、miR-NC、miR-423-5p mimics、anti-miR-NC、anti-miR-423-5p由广州锐博生物科技有限公司合成; MTT试剂、细胞凋亡检测试剂盒、双荧光素酶活性检测试剂盒和ELISA检测试剂盒均购自上海酶联生物科技有限公司; 一抗与HRP

标记的二抗购自美国CST公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** 将人软骨细胞系CHON-001接种于添加有10%胎牛血清和1%的青霉素/链霉素的杜氏改良Eagle培养基中, 置于37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养。

**1.2.2 实验处理及分组** 软骨细胞接种于6孔板( $1\times 10^5$ 个/孔)中, 随后与10 $\mu$ g/L IL-1 $\beta$ 于37 $^{\circ}$ C共孵育24 h<sup>[10]</sup>, 记为IL-1 $\beta$ 组。采用脂质体转染法将SNHG3小干扰RNA(si-SNHG3 5'-GGC ACA CTG TGT TGG TGG TTA TAT T-3')、si-SNHG3阴性对照(si-NC 5'-GGC TCA GTG GTT GTG TTG TAA CAT T-3')、miR-423-5p模拟物(miR-423-5p mimics 5'-UGA GGG GCA GAG AGC GAG ACU UU-3')、模拟物阴性对照(miR-NC 5'-UUU GUA CUA CAC AAA AGU ACU G-3')、miR-423-5p抑制剂(anti-miR-423-5p 5'-AAA GUC UCG CUC UCU GCC CCU CA-3')、抑制剂阴性对照(anti-miR-NC 5'-CAG UAC UUU UGU GUA GUA CAA A-3')单独或者共转染至软骨细胞, 随后与10 $\mu$ g/L IL-1 $\beta$ 于37 $^{\circ}$ C共孵育24 h, 分别记为IL-1 $\beta$ +si-SNHG3组、IL-1 $\beta$ +si-NC组、IL-1 $\beta$ +miR-423-5p组、IL-1 $\beta$ +miR-NC组、IL-1 $\beta$ +si-SNHG3+anti-miR-423-5p组、IL-1 $\beta$ +si-SNHG3+anti-miR-NC组。

**1.2.3 qRT-PCR** 取软骨细胞加入1 mL Trizol试剂提取总RNA, 根据反转录试剂盒步骤将各反应液与总RNA混合后, 置于37 $^{\circ}$ C进行酶反应20 min, 结束后于80 $^{\circ}$ C静置5 s, 终止反转录反应。将合成的cDNA用作PCR扩增的模板, 扩增条件为: 95 $^{\circ}$ C预变性10 min; 95 $^{\circ}$ C变性10 s, 60 $^{\circ}$ C退火20 s, 72 $^{\circ}$ C延伸10 s, 循环数为45。分别以GAPDH和U6为内参, 引物序列为: SNHG3上游引物5'-ATT CGC AGT GGT CGC TTC TT-3', SNHG3下游引物5'-TGC TCC AAG TCT GCC AAA GAT-3'; miR-423-5p上游引物5'-TGA G GG GCA GAG CGA GAC TTT-3', miR-

423-5p下游引物5'-GTG CAG GGT CCG AGG TGG GCA GAG CGA GAC TTT-3'; *GAPDH*上游引物5'-GAC CTG ACC TGC CGT CTA G-3', *GAPDH*下游引物5'-AGG AGT GGG TGT CGC TGT-3'; *U6*上游引物5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3', *U6*下游引物5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3'。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算SNHG3、miR-423-5p的相对表达量。

**1.2.4 MTT** 收集各组软骨细胞悬液, 96孔板每孔加入100  $\mu$ L细胞悬液( $3 \times 10^3$ 个/孔)。将20  $\mu$ L MTT溶液加入每孔并在37  $^{\circ}$ C继续孵育4 h, 弃上清液, 每孔加入DMSO以溶解MTT晶体, 37  $^{\circ}$ C孵育3 h, 待晶体全部溶解后, 将样品通过酶标仪进行鉴定, 并通过分析490 nm波长处的吸光度(*D*)值来检测细胞增殖情况。增殖抑制率= $[(D_{\text{对照组}} - D_{\text{实验组}}) / D_{\text{对照组}}] \times 100\%$ 。

**1.2.5 流式细胞术** 用胰蛋白酶消化培养各组细胞, 并将其悬浮在结合缓冲液中。随后, 将5  $\mu$ L Annexin V-FITC及5  $\mu$ L PI与细胞在黑暗中室温孵育15 min。最后用流式细胞仪对样品进行分析。

**1.2.6 ELISA法** 收集各组软骨细胞的上清液, 按照试剂盒说明书采用ELISA法检测IL-6、IL-8、IL-10的含量。

**1.2.7 双荧光素酶报告实验** 合成含有miR-423-5p互补结合位点的SNHG3序列作为野生型(WT)片段(5'-TGA AGT CTT AAT ACA TGT TTA AGA AAA ATT GGC TAA AAA GTA GCC AGG CAT GAT GAT AGG TAG CTG GAG GAA GGA GAA TCG CTG GAG CCC AGG AGT GAC CTA TAC TCA AAC CTA TAC TCC AGT GCC ACT GTA CTC CAA CCC CAG GCG ATA GCA TGA GGC CCC TCG TTG AAA AAG TTT AGG GTT TTG CTG TAC TAA TAG ATT AAT ATC TTG TTT TGC AGG ATT TGT TAA GGA TTC CAA GTA ACT CTT ATT TGG TGA GTA AAT CTG CTA ATT GTT TTT TGC TTA TCA GCT CTT TGT CAA TGA-3')并将其克隆至pGL3质粒多克隆位点*Sac* I和*Xho* I构建野生型载体WT-SNHG3, 用点突变试剂盒构建含有SNHG3与miR-423-5p的突变体, 随后构建突变型载体MUT-SNHG3。采用Lipofectamine 2000将WT-SNHG3、MUT-SNHG3分别与miR-NC或miR-423-5p mimics共转染至软骨细胞。48 h后, 评估荧光素酶活性。

**1.2.8 Western blot** 将培养的软骨细胞在含有磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液中裂解。细胞裂解液中的蛋

白质用10% SDS-PAGE分离, 随后转膜, 在Tris缓冲盐水中加入脱脂牛奶(脱脂奶粉终浓度为5%), 置于摇床, 室温下孵育2 h, 加入Bax(1:1 000)、Bcl-2(1:1 000)一抗与内参*GAPDH*抗体(1:3 000)4  $^{\circ}$ C孵育过夜, 随后加入1:5 000稀释的二抗, 37  $^{\circ}$ C孵育2 h。免疫反应蛋白的信号使用Quantity One软件进行定量。

### 1.3 统计学分析

计量资料以均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 采用独立样本*t*检验(两组)和单因素方差分析(多组)在SPSS 21.0统计学软件上进行数据分析,  $P < 0.05$ 提示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 SNHG3敲低对IL-1 $\beta$ 诱导的骨关节炎软骨细胞凋亡的影响

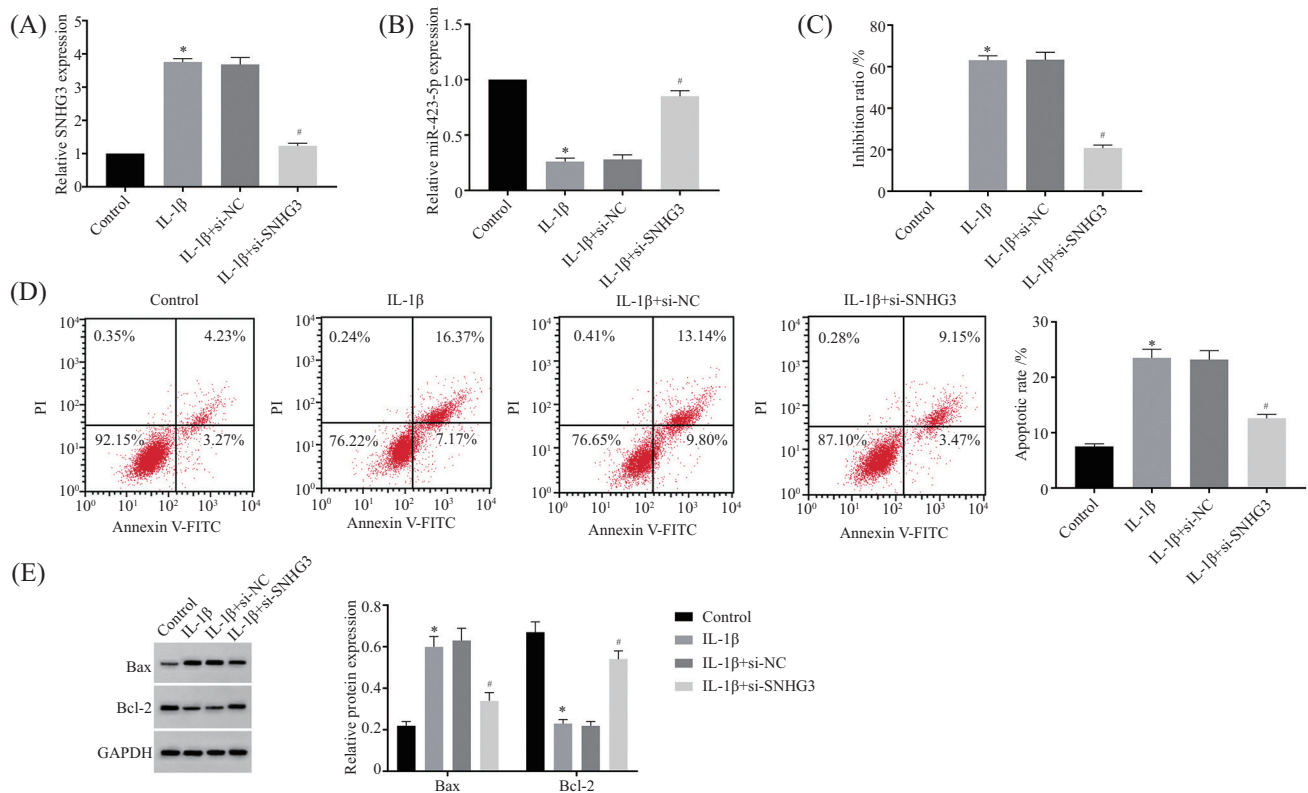
图1A显示, IL-1 $\beta$ 处理后, SNHG3含量上调, 而si-SNHG3处理能够抑制SNHG3的上调( $P < 0.05$ )。图1B显示, IL-1 $\beta$ 处理后, miR-423-5p含量下调, 而si-SNHG3处理能够使miR-423-5p含量上升( $P < 0.05$ )。图1C显示, IL-1 $\beta$ 处理后, 细胞增殖抑制率增加, 而si-SNHG3处理能够抑制细胞增殖抑制率的增加( $P < 0.05$ )。图1D显示, IL-1 $\beta$ 处理后, 细胞凋亡率增加, 而si-SNHG3处理能够抑制细胞凋亡率的增加( $P < 0.05$ )。图1E显示, IL-1 $\beta$ 处理后, Bax蛋白表达量增加、Bcl-2蛋白表达量减少, 而si-SNHG3处理能够减弱IL-1 $\beta$ 对Bax和Bcl-2蛋白表达量的影响( $P < 0.05$ )。这些实验结果表明, SNHG3敲低能够部分抑制IL-1 $\beta$ 诱导的骨关节炎软骨细胞凋亡。

### 2.2 沉默SNHG3对IL-1 $\beta$ 诱导的骨关节炎软骨细胞中炎症因子的影响

图2A~图2C显示IL-1 $\beta$ 处理增加细胞上清中IL-6、IL-8的水平, 并减少IL-10的水平, 但是si-SNHG3处理减弱了IL-1 $\beta$ 对IL-6、IL-8、IL-10水平的影响( $P < 0.05$ )。这些结果说明, SNHG3沉默能部分抑制IL-1 $\beta$ 诱导的骨关节炎软骨细胞炎症反应。

### 2.3 SNHG3靶向调控miR-423-5p

miR-423-5p在SNHG3上存在互补序列(图3A)。双荧光素酶报告实验显示, miR-423-5p模拟物转染可显著抑制WT-SNHG3组的荧光素酶活性, 但不影响MUT-SNHG3组的荧光素酶活性( $P < 0.05$ )(图3B)。此外, SNHG3敲低导致细胞中miR-423-5p的含量升高( $P < 0.05$ )(图3C)。以上结果表明SNHG3能够靶向

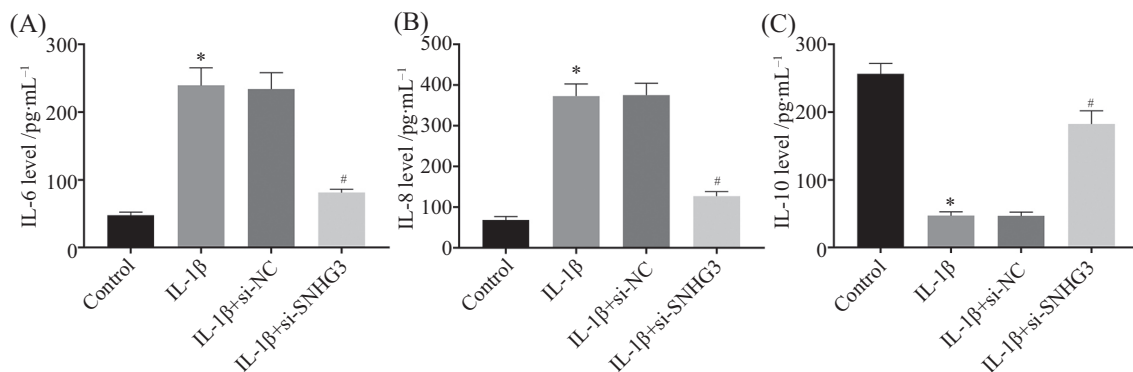


A、B: SNHG3、miR-423-5p表达分析; C: 细胞增殖抑制率分析; D: 细胞凋亡率分析; E: Bax、Bcl-2蛋白表达分析。\* $P$ <0.05, 与对照组相比; # $P$ <0.05, 与IL-1 $\beta$ +si-NC组相比。

A,B: analysis of SNHG3, miR-423-5p expression; C: analysis of cell proliferation inhibition rate; D: analysis of cell apoptosis rate; E: analysis of protein expression of Bax and Bcl-2. \* $P$ <0.05 compared with control group; # $P$ <0.05 compared with IL-1 $\beta$ +si-NC group.

图1 沉默SNHG3对IL-1 $\beta$ 诱导的骨关节炎软骨细胞凋亡的影响

Fig.1 Effect of silencing SNHG3 on IL-1 $\beta$ -induced chondrocyte apoptosis in osteoarthritis



A~C: 细胞上清中IL-6、IL-8、IL-10水平分析。\* $P$ <0.05, 与对照组相比; # $P$ <0.05, 与IL-1 $\beta$ +si-NC组相比。

A-C: analysis of level of IL-6, IL-8, IL-10 in cellular supernatant. \* $P$ <0.05 compared with control group; # $P$ <0.05 compared with IL-1 $\beta$ +si-NC group.

图2 沉默SNHG3对IL-1 $\beta$ 诱导的骨关节炎软骨细胞中炎症因子的影响

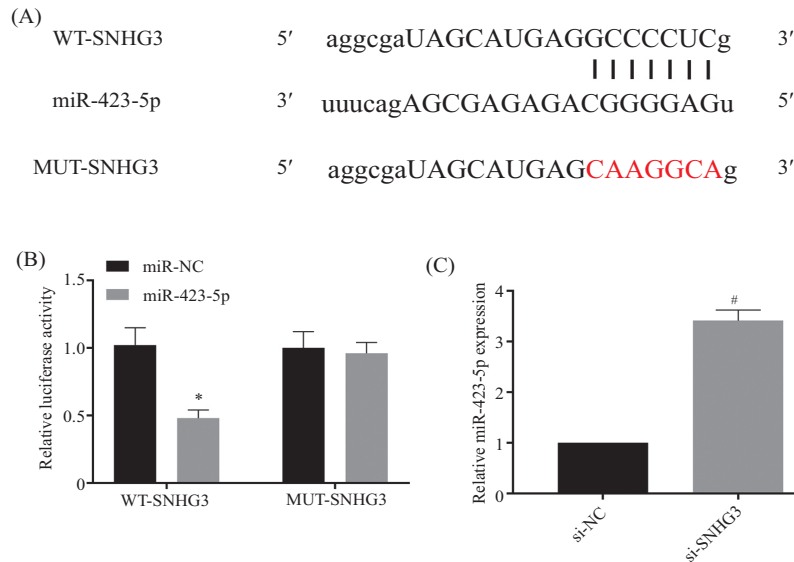
Fig.2 Effect of silencing SNHG3 on the expression of inflammatory factors in IL-1 $\beta$ -induced osteoarthritis chondrocytes

miR-423-5p。

#### 2.4 miR-423-5p对IL-1 $\beta$ 诱导的骨关节炎软骨细胞损伤的影响

图4A显示miR-423-5p模拟物转染可增加IL-1 $\beta$ 处理的软骨细胞中miR-423-5p的表达量( $P$ <0.05)。

图4B显示miR-423-5p模拟物处理后, IL-1 $\beta$ 诱导的软骨细胞增殖抑制率降低( $P$ <0.05)。图4C和图4D显示miR-423-5p模拟物处理后, IL-1 $\beta$ 诱导的软骨细胞凋亡率降低( $P$ <0.05)。图4E显示miR-423-5p模拟物处理后, IL-1 $\beta$ 诱导的软骨细胞中Bax表达量降



A: SNHG3和miR-423-5p结合位点以及SNHG3的突变位点, 红色碱基序列为互补序列突变后的碱基序列; B: SNHG3和miR-423-5p结合关系鉴定; C: SNHG3敲低对miR-423-5p表达的影响。\* $P<0.05$ , 与miR-NC组相比; # $P<0.05$ , 与si-NC组相比。

A: SNHG3 and miR-423-5p binding site and SNHG3 mutation site, the red sequence is the sequence after mutation of the complementary sequence; B: identification of the binding relationship between SNHG3 and miR-423-5p; C: effect of SNHG3 knockdown on miR-423-5p expression. \* $P<0.05$  compared with miR-NC group; # $P<0.05$  compared with si-NC group.

图3 SNHG3靶向调控miR-423-5p

Fig.3 SNHG3 targets miR-423-5p

低、Bcl-2表达量增加( $P<0.05$ )。图4F显示miR-423-5p模拟物处理后, IL-1 $\beta$ 诱导的软骨细胞上清中IL-6、IL-8水平降低、IL-10水平增加( $P<0.05$ )。以上结果说明, miR-423-5p过表达能够缓解IL-1 $\beta$ 诱导的骨关节炎软骨细胞损伤。

### 2.5 抑制miR-423-5p对转染了si-SNHG3的IL-1 $\beta$ 诱导的骨关节炎软骨细胞凋亡及炎症因子的影响

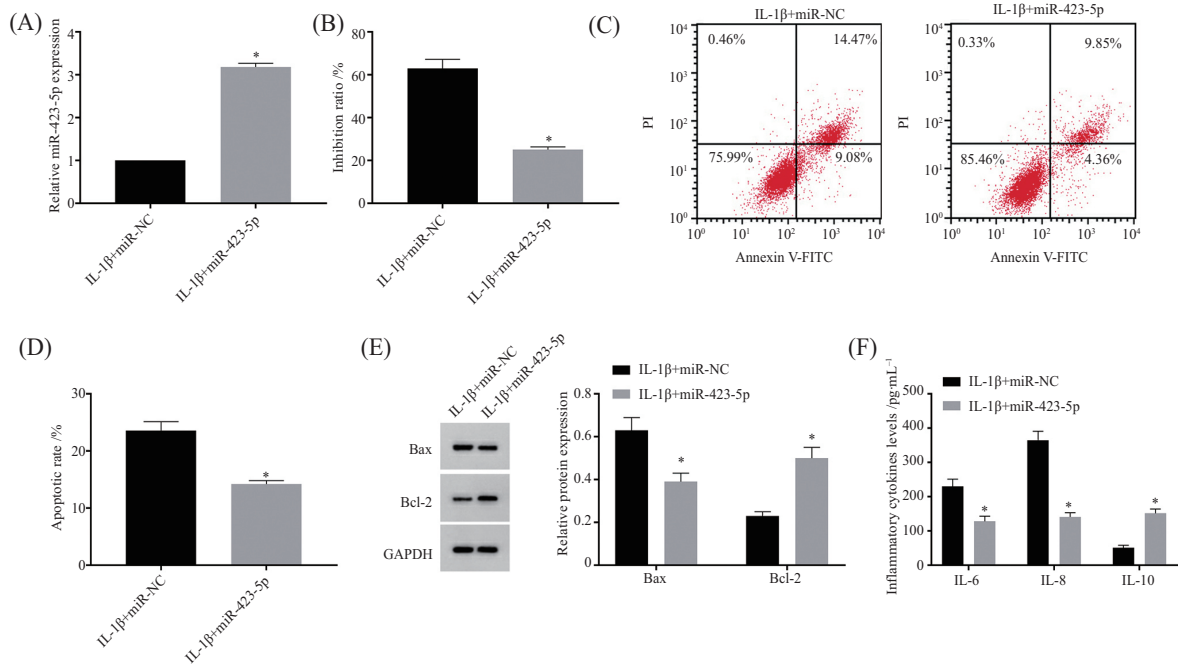
图5A显示miR-423-5p抑制剂处理后, 细胞中miR-423-5p表达量降低( $P<0.05$ )。图5B显示miR-423-5p抑制剂处理后, 软骨细胞增殖抑制率增加( $P<0.05$ )。图5C和图5D显示miR-423-5p抑制剂处理后, 软骨细胞凋亡率增加( $P<0.05$ )。图5E显示miR-423-5p抑制剂处理后, 软骨细胞中Bax表达量增加、Bcl-2表达量降低( $P<0.05$ )。图5F显示miR-423-5p抑制剂处理后, 软骨细胞上清中IL-6、IL-8水平增加、IL-10水平降低( $P<0.05$ )。以上结果说明, SNHG3通过调控miR-423-5p介导IL-1 $\beta$ 诱导的骨关节炎软骨细胞损伤。

## 3 讨论

LncRNA可通过靶向结合miRNA而阻断其对靶基因的抑制作用, 并可通过影响细胞的生物学行为而参与调节骨关节炎的发展<sup>[11-12]</sup>。已有报道显示,

lncRNAs在骨关节炎中的异常表达可参与调节骨关节炎的发展<sup>[13-14]</sup>。SNHG3作为一种lncRNAs参与多种疾病的调控。如SNHG3可通过作为miR-485的竞争性内源RNA(competing endogenous RNA, ceRNA)分子而上调靶基因ATG7的表达, 从而促进神经元细胞凋亡而造成细胞损伤<sup>[15]</sup>。SNHG3在缺氧/缺血诱导的脑损伤中呈高表达, 并可促进细胞损伤<sup>[16]</sup>。SNHG3可通过激活TWEAK/Fn14/STAT3通路而促进脑微血管细胞损伤<sup>[17]</sup>。但SNHG3在骨关节炎中的表达情况及其可能的作用机制尚未阐明。本研究通过建立体外骨关节炎细胞模型, 分析了SNHG3在骨关节炎软骨细胞损伤中发挥的作用。

本研究发现IL-1 $\beta$ 诱导后, 软骨细胞表现为增殖减少、凋亡增加。Bax是促凋亡蛋白, Bcl-2是抑凋亡蛋白, Western blot结果展示IL-1 $\beta$ 诱导导致软骨细胞中Bax蛋白含量升高, Bcl-2蛋白含量降低, 进一步提示IL-1 $\beta$ 可促进细胞凋亡。以上结果与之前报道的结果相似<sup>[18]</sup>。研究结果说明IL-1 $\beta$ 刺激软骨细胞高表达SNHG3, 提示SNHG3在骨关节炎发生及发展过程中可能发挥重要调控作用。进一步功能实验发现, 沉默SNHG3可增强细胞增殖能力及降低细胞凋亡能力, 提示沉默SNHG3可促进IL-1 $\beta$ 诱导的软骨细胞增

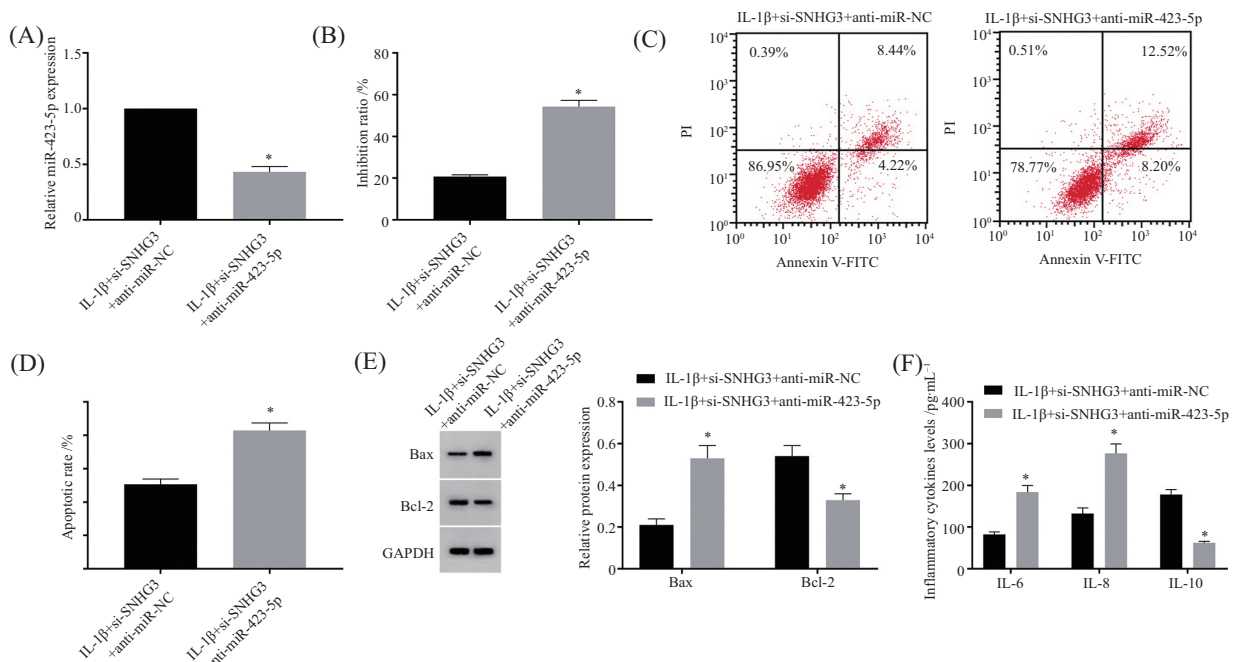


A: miR-423-5p表达分析; B: 细胞增殖抑制率分析; C、D: 细胞凋亡率分析; E: Bax、Bcl-2蛋白表达分析; F: 细胞上清中IL-6、IL-8、IL-10水平分析。  
\* $P < 0.05$ , 与IL-1 $\beta$ +miR-NC组相比。

A: expression analysis of miR-423-5p; B: analysis of cell proliferation inhibition rate; C, D: analysis of cell apoptosis rate; E: analysis of Bax, Bcl-2 protein expression; F: analysis of IL-6, IL-8 and IL-10 levels in cell supernatant. \* $P < 0.05$  compared with IL-1 $\beta$ +miR-NC group.

图4 miR-423-5p对IL-1 $\beta$ 诱导的骨关节炎软骨细胞凋亡及炎症因子的影响

Fig.4 Effects of miR-423-5p on IL-1 $\beta$ -induced chondrocyte apoptosis and expression of inflammatory factors in osteoarthritis



A: miR-423-5p表达分析; B: 细胞增殖抑制率分析; C、D: 细胞凋亡率分析; E: Bax、Bcl-2蛋白表达分析; F: 细胞上清中IL-6、IL-8、IL-10水平分析。  
\* $P < 0.05$ , 与IL-1 $\beta$ +si-SNHG3+anti-miR-NC组相比。

A: expression analysis of miR-423-5p; B: analysis of cell proliferation inhibition rate; C, D: analysis of cell apoptosis rate; E: analysis of Bax, Bcl-2 protein expression; F: analysis of IL-6, IL-8 and IL-10 levels in cell supernatant. \* $P < 0.05$  compared with IL-1 $\beta$ +si-SNHG3+anti-miR-NC group.

图5 抑制miR-423-5p对沉默SNHG3处理的IL-1 $\beta$ 诱导的骨关节炎软骨细胞凋亡及炎症因子的影响

Fig.5 Effects of miR-423-5p inhibition on apoptosis and inflammatory factors expression in IL-1 $\beta$ -induced osteoarthritis chondrocytes treated with SNHG3 silencing

殖及抑制细胞凋亡。此外, 本研究发现促炎因子IL-6和IL-8在IL-1 $\beta$ 诱导的软骨细胞中高表达, IL-10是一种具有抗炎特性的细胞因子, 通过抑制NK细胞、Th1细胞和巨噬细胞的活性限制它们对病原体的免疫反应, 从而防止促炎细胞因子对宿主的损害<sup>[19]</sup>。在本次研究中IL-1 $\beta$ 诱导软骨细胞低表达IL-10, 这也与之前报道结果相似<sup>[20]</sup>。随后, 回复实验显示, 沉默SNHG3可降低IL-6、IL-8的水平而增高IL-10的水平, 提示沉默SNHG3可抑制IL-1 $\beta$ 诱导的软骨细胞炎症反应。以上结果表明, SNHG3可能对骨关节炎发生后软骨细胞损伤具有促进作用。

LncRNA可通过结合miRNA参与疾病的发生发展<sup>[7-8]</sup>。本研究证实SNHG3靶向调控miR-423-5p。研究表明, miR-423-5p通过靶向*Nox4*而减轻高糖诱导的足细胞损伤<sup>[21]</sup>。miR-423-5p在骨关节炎中呈低表达, 上调其表达可抑制骨关节炎发展进程<sup>[9]</sup>。在本次实验中, IL-1 $\beta$ 可降低软骨细胞中miR-423-5p含量, 功能实验显示过表达miR-423-5p缓解了IL-1 $\beta$ 诱导的软骨细胞增殖减少、凋亡增加以及炎症反应增强, 表明了其可抑制骨关节炎发展进程, 这与报道的数据相符<sup>[9]</sup>。下调miR-423-5p可逆转SNHG3敲低对IL-1 $\beta$ 诱导的软骨细胞损伤的抑制作用, 提示SNHG3/miR-423-5p轴参与调节IL-1 $\beta$ 诱导的骨关节炎软骨细胞损伤。证据已表明miR-423-5p可通过抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路激活来调控缺氧/复氧引起的细胞凋亡和线粒体功能障碍<sup>[22]</sup>。因此, SNHG3可能通过miR-423-5p/Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路促进骨关节炎发生后的软骨细胞损伤, 但此猜想还需后续实验验证。

综上所述, SNHG3可充当miR-423-5p的ceRNA分子而参与骨关节炎发生及发展过程, 提示SNHG3可能是骨关节炎的潜在治疗靶点。但本次研究仅限于体外实验, 关于其具体作用机制仍需进一步体内探究。

### 参考文献 (References)

- [1] ZHANG Y, WANG F, CHEN G, et al. LncRNA MALAT1 promotes osteoarthritis by modulating miR-150-5p/AKT3 axis [J]. *Cell Biosci*, 2019, 9(1): 54-64.
- [2] LUO X, WANG J, WEI X, et al. Knockdown of lncRNA MFI2-AS1 inhibits lipopolysaccharide-induced osteoarthritis progression by miR-130a-3p/TCF4 [J]. *Life Sci*, 2020, 240(1): 117019-29.
- [3] KONG H, SUN M L, ZHANG X A, et al. Crosstalk among circRNA/lncRNA, miRNA, and mRNA in osteoarthritis [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 774370.
- [4] HUANG D, CAO Y, ZU T, et al. Interference with long noncoding RNA SNHG3 alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting microglial activation [J]. *J Leukoc Biol*, 2021, 19(1): 1-10.
- [5] CHEN L, LIU H, SUN C, et al. A novel lncRNA SNHG3 promotes osteoblast differentiation through BMP2 upregulation in aortic valve calcification [J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2022, 7(9): 899-914.
- [6] 谭晓谦, 梅海波, 伍江雁, 等. lncRNA SNHG3靶向调控miR-514a-5p对骨肉瘤细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响 [J]. *中国医药导报*(TAN X Q, MEI H B, WU J Y, et al. Effects of lncRNA SNHG3 targeting miR-514a-5p on proliferation, apoptosis, migration and invasion of osteosarcoma cells [J]. *China Medical Guide*), 2021, 18(22): 22-7.
- [7] TANG L P, DING J B, LIU Z H, et al. LncRNA TUG1 promotes osteoarthritis-induced degradation of chondrocyte extracellular matrix via miR-195/MMP-13 axis [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(24): 8574-81.
- [8] TIAN F, WANG J, ZHANG Z, et al. LncRNA SNHG7/miR-34a-5p/SYVN1 axis plays a vital role in proliferation, apoptosis and autophagy in osteoarthritis [J]. *Biol Res*, 2020, 53(1): 9-19.
- [9] CHEN K, FANG H, XU N. LncRNA LOXL1-AS1 is transcriptionally activated by JUND and contributes to osteoarthritis progression via targeting the miR-423-5p/KDM5C axis [J]. *Life Sci*, 2020, 258(1): 118095-105.
- [10] 邱伟建, 肖鹏, 吴学建. 苍术素抑制白细胞介素-1 $\beta$ 诱导的人骨关节炎软骨细胞炎症 [J]. *中华实验外科杂志*(QIU W J, XIAO P, WU X J. Atractyolitin inhibits interleukin-1 $\beta$ -induced chondrocyte inflammation in human osteoarthritis [J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*), 2019, 36(8): 1442-4.
- [11] HUANG T, WANG J, ZHOU Y, et al. LncRNA CASC2 is up-regulated in osteoarthritis and participates in the regulation of IL-17 expression and chondrocyte proliferation and apoptosis [J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(5): 1-12.
- [12] LI X, HUANG T L, ZHANG G D, et al. LncRNA ANRIL impacts the progress of osteoarthritis via regulating proliferation and apoptosis of osteoarthritis synoviocytes [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(22): 9729-37.
- [13] LIU Y, YANG Y, DING L, et al. LncRNA MIR4435-2HG inhibits the progression of osteoarthritis through miR-510-3p sponging [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(2): 1693-701.
- [14] XIAO Y, BAO Y, TANG L, et al. LncRNA MIR4435-2HG is downregulated in osteoarthritis and regulates chondrocyte cell proliferation and apoptosis [J]. *J Orthop Surg Res*, 2019, 14(1): 247-57.
- [15] CAO Y, PAN L, ZHANG X, et al. LncRNA SNHG3 promotes autophagy-induced neuronal cell apoptosis by acting as a ceRNA for miR-485 to up-regulate ATG7 expression [J]. *Metab Brain Dis*, 2020, 35(8): 1361-9.
- [16] YANG Q, WU M F, ZHU L H, et al. Long non-coding RNA Snhg3 protects against hypoxia/ischemia-induced neonatal brain injury [J]. *Exp Mol Pathol*, 2020, 112(1): 104343-53.
- [17] ZHANG J, DONG B, HAO J, et al. LncRNA Snhg3 contributes to dysfunction of cerebral microvascular cells in intracerebral hemorrhage rats by activating the TWEAK/Fn14/STAT3 pathway [J]. *Life Sci*, 2019, 237(1): 116929-39.

- [18] 胡蔚, 毛强. 刺五加苷 B 对 IL-1 $\beta$  诱导的骨关节炎软骨细胞凋亡的影响 [J]. 中国现代应用药学 (HU W, MAO Q. Effect of acanthopanthoside B on IL-1 $\beta$ -induced chondrocyte apoptosis in osteoarthritis [J]. Chinese Modern Applied Pharmacy), 2020, 37(21): 6.
- [19] WANG X, WONG K, OUYANG W, et al. Targeting IL-10 family cytokines for the treatment of human diseases [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2019, 11(2): a028548.
- [20] JIANG L, ZHOU X, HUANG C, et al. The elevated expression of IL-38 serves as an anti-inflammatory factor in osteoarthritis and its protective effect in osteoarthritic chondrocytes [J]. Int Immunopharmacol, 2021, 94(1): 107489-99.
- [21] XU Y, ZHANG J, FAN L, et al. MiR-423-5p suppresses high-glucose-induced podocyte injury by targeting Nox4 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 505(2): 339-45.
- [22] ZHU X, LU X. MiR-423-5p inhibition alleviates cardiomyocyte apoptosis and mitochondrial dysfunction caused by hypoxia/reoxygenation through activation of the wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway via targeting MYBL2 [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(12): 22034-43.