

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.10.007

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220221.1453.010.html\(2022-02-21\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220221.1453.010.html(2022-02-21))

HAAM 支架复合兔 BMSCs 促进关节软骨修复的实验研究

贾海栋,李 毅[△]
(河北省邯郸市中心医院骨一科 056000)

[摘要] **目的** 探究人脱细胞羊膜(HAAM)支架复合兔骨髓间充质干细胞(BMSCs)是否能够促进兔关节软骨损伤的修复,为临床治疗软骨损伤提供新的思路和实验依据。**方法** 取健康成年新西兰大白兔 15 只,体重 2.5~3.0 kg,雌雄不限,分为空白对照组、HAAM 组、HAAM+BMSCs 组,每组 5 只。空白对照组不做特殊处理;HAAM 组用制备的 HAAM 支架填充在缺损的软骨部位;HAAM+BMSCs 组用 HAAM 复合 BMSCs 填充在缺损的软骨部位。术后 3 个月处死兔子,进行大体观察并做苏木素-伊红(HE)染色、甲苯胺蓝染色观察缺损处软骨修复的情况。**结果** 成功制备了 HAAM 支架,将 BMSCs 种植到 HAAM 支架上可见细胞在支架上生长情况良好,形态和增殖未见明显变化。体内实验结果提示 HAAM+BMSCs 组软骨缺损处可见新生的软骨组织,较其他两组修复效果更好,新生的软骨组织与正常软骨组织相差不大。**结论** HAAM 是一种性能良好的天然支架,无细胞毒性,细胞能在上面生长;HAAM 复合 BMSCs 对关节软骨的修复具有一定的促进作用。

[关键词] 人脱细胞羊膜支架;骨髓间充质干细胞;软骨损伤;软骨修复
[中图分类号] R318.08 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)10-1654-06

Experimental study of human acellular amniotic membrane scaffold combined with rabbit bone marrow mesenchymal stem cells to promote articular cartilage repair in rabbits

JIA Haidong, LI Yi[△]

(First Department of Orthopedics, Handan Municipal Central Hospital, Handan, Hebei 056000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate whether human acellular amniotic membrane (HAAM) scaffolds combined with rabbit bone marrow mesenchymal stem cells(BMSCs) can promote the repair of rabbit articular cartilage injury to provide the new ideas and experimental basis for clinical treatment of cartilage injury. **Methods** Fifteen healthy adult New Zealand white rabbits, weighing about 2.5–3.0 kg, male or female, were randomly divided into the blank control group, HAAM group and HAAM+BMSCs group, 5 cases in each group. The blank control group was not treated specially; the HAAM group was filled in the defect cartilage site with the prepared HAAM; The HAAM+BMSCs group was filled with HAAM combined with BMSCs in the defect cartilage site. The rabbits were killed in postoperative 3 months. The gross observation was conducted and the HE staining and toluidine blue staining were performed for observing the cartilage repair situation in the defected site. **Results** The HAAM scaffold was successfully prepared, and the BMSCs were seeded on the HAAM scaffold. The cells were well grown on the scaffold, and there was no obvious change in morphology and proliferation. The in vivo experimental results suggested that the new cartilage tissue could be seen in the cartilage defect of HAAM+BMSCs group, and the repair effect was better than that of the other two groups. The new cartilage tissue was not much different from normal cartilage tissue. **Conclusion** HAAM is a natural scaffold with good performance and no cytotoxicity. The cells could grow on it. HAAM combined with BMSCs has a certain promotion effect on the repair of articular cartilage.

[Key words] HAAM; BMSCs; cartilage damage; cartilage repair

软骨主要分布于长骨末端,在关节运动过程中参与减震的作用^[1]。关节软骨主要由软骨细胞和细胞外基质组成,缺乏血管、神经纤维和淋巴管。关节软骨损伤是临床上比较常见的疾病,是导致关节疼痛和残疾的主要原因^[2]。研究表明,美国每年有大约 10 万例的关节软骨损伤需要手术治疗^[3]。由于软骨特

作者简介:贾海栋(1980—),主治医师,硕士,主要从事骨科疾病的研究。 [△] 通信作者, E-mail:384739850@qq.com。

殊的结构,氧气和营养物质的来源有限,因此当软骨发生损伤时,其自我修复能力十分有限。目前,软骨损伤的常用治疗手段主要有:物理治疗、药物治疗、手术治疗,常用的手术方式主要有微骨折术、骨髓刺激术、自体软骨细胞移植术等^[4-8]。虽然其在临床上得到了广泛的应用,但是每种治疗方式都很难达到患者预期的期望。因此,急需寻求新的手段来修复软骨缺损。

组织工程技术的发展为临床很多疾病的治疗提供了新的思路,在软骨损伤的研究也取得了不错的成绩。组织工程技术包括三大核心要素:种子细胞,生长因子和支架材料^[9]。目前常用的种子细胞主要是各种来源的干细胞,包括:骨髓间充质干细胞(BMSCs)^[10]、脂肪 MSCs^[11]、外周血来源的 MSCs^[12]等。BMSCs 是目前应用最为广泛的干细胞,已经证实其能够向骨细胞、软骨细胞和脂肪细胞分化^[13-15]。

支架材料是组织工程技术的又一核心要素,其能够为种子细胞的生长、增殖、分化提供良好的微环境。HAAM 支架来源于人胎盘的羊膜,通过将羊膜脱细胞处理制备而成。由于来源广泛、成本较低,且具有抗炎作用,HAAM 支架作为一种天然生物支架材料已经广泛应用于组织工程技术^[16-18]。因此,本实验的目的即探究 HAAM 支架复合 BMSCs 是否具有促进兔关节软骨修复的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

健康成年新西兰大白兔 15 只,体重 2.5~3.0 kg,雌雄不限。

1.2 方法

1.2.1 HAAM 支架的制备

取下羊膜,无菌条件下转移至实验室超净台上,用磷酸盐缓冲液(PBS)多次冲洗,用剪刀剪成合适的大小置于玻璃皿中(上皮面朝上),用含有乙二胺四乙酸(EDTA)浓度为 0.25%的胰酶在 37℃培养箱中消化 30 min。取出后用细胞刮将消化下来的细胞刮掉。将脱细胞处理后的羊膜剪成适当的大小并平铺在 6 孔板中,用三抗对 HAAM 进行消毒约 1 h,吸干三抗后用 PBS 冲洗数次并用紫外线再次消毒 1 h,见图 1。

1.2.2 BMSCs 的分离培养

将新西兰大白兔处死并进行消毒处理。切开皮肤,暴露股骨,将股骨取下置于 PBS 中。将双侧骨髓端截取,暴露骨髓腔。用 5 mL 注射器吸取 PBS,用 PBS 反复冲洗骨髓腔,将骨髓全部冲洗出。800 r/min 离心 2 min,弃去上清液,用含 10%胎牛血清的 DMEM/F12 培养基重悬细胞,然后接种到培养瓶,置于 37℃、5% CO₂ 孵箱中培养,每 2~3 天换液。

1.2.3 将 BMSCs 种植到 HAAM 支架上

将生长状态良好的 P3 代 BMSCs 以 $1 \times 10^5/\text{cm}^2$ 的密度种植到预先制备好的 HAAM 支架上,隔天在普通倒置相差显微镜下观察 BMSCs 的生长情况,每 2~3 天更换培养基。

1.2.4 鬼笔环肽染色

BMSCs 种植到 HAAM 支架上后分别在 1、3、7 d 通过鬼笔环肽染色观察细胞在支架上的生长情况,鬼笔环肽染色主要是观察细胞的骨架。分别在 1、3、7 d 时选取在 HAAM 支架上生长情况良好的 BMSCs 进行鬼笔环肽染色,吸掉培养基,PBS 清洗细胞;用 4%的多聚甲醛室温固定 10 min;再次用 PBS 清洗细胞;将配置好的鬼笔环肽工作液按照说明书剂量滴加到 6 孔板,室温避光孵育 30 min;用 PBS 清洗 3 次;然后用 DAPI 复染细胞核,约 30 s;再次用 PBS 清洗 3 次。荧光显微镜下观察并拍照。

1.2.5 动物体内实验

所有动物在手术前以 0.75 mL/kg 的剂量静脉注射 3%戊巴比妥钠进行麻醉。待麻醉起效后进行备皮、消毒铺巾,沿着左侧膝关节正中切开皮肤,充分暴露膝关节腔,用环钻在股骨滑车处钻一直径为 3.5 mm,深度为 3.0 mm 的骨软骨缺损(见图 2)。将 15 只新西兰大白兔分为 3 组(每组 5 只):空白对照组、HAAM 组、HAAM+BMSCs 组。复位髌骨,逐层缝合皮肤,伤口消毒,术后连续 3 d 肌内注射青霉素 20 万单位/只。术后 3 个月取关节标本,大体上观察软骨缺损处的修复情况并进行大体评分。

1.2.6 组织学检测

将标本取下后立即用 4%的多聚甲醛室温固定 24 h,然后用 EDTA 脱钙液脱钙约 2 周,然后进行切片。首先将标本脱水处理,然后石蜡包埋后切片。切片成功后进行苏木素-伊红(HE)、甲苯胺蓝观察缺损处的修复情况。

1.2.7 主要观察指标

BMSCs 在 HAAM 支架上的生长情况及 HAAM 支架复合 BMSCs 对兔关节软骨的修复作用。

1.3 统计学处理

采用 SPSS18.0 统计软件对数据进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

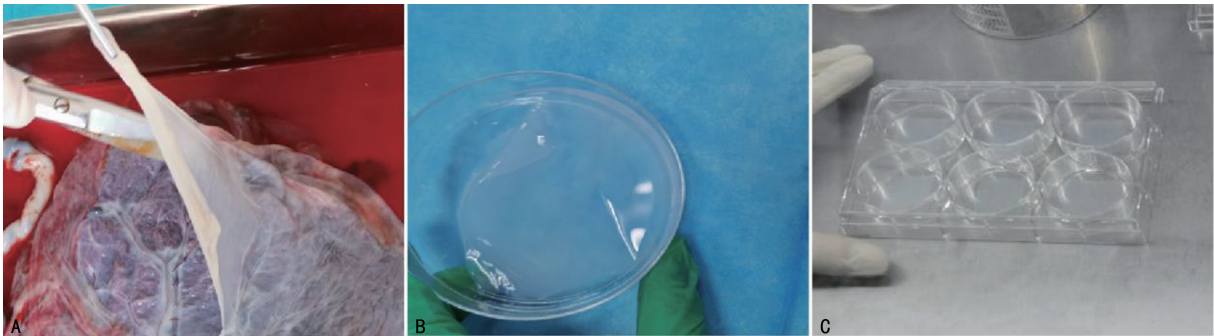
2 结果

2.1 BMSCs 的形态

倒置相差显微镜下观察 BMSCs 的形态:P0 代(原代)BMSCs 多呈圆形或椭圆形贴壁生长;经过多次传代培养后 BMSCs 逐渐呈长梭形涡旋状贴壁生长;P3 代 BMSCs 形态最为典型,呈明显的涡旋状贴壁生长,见图 3。

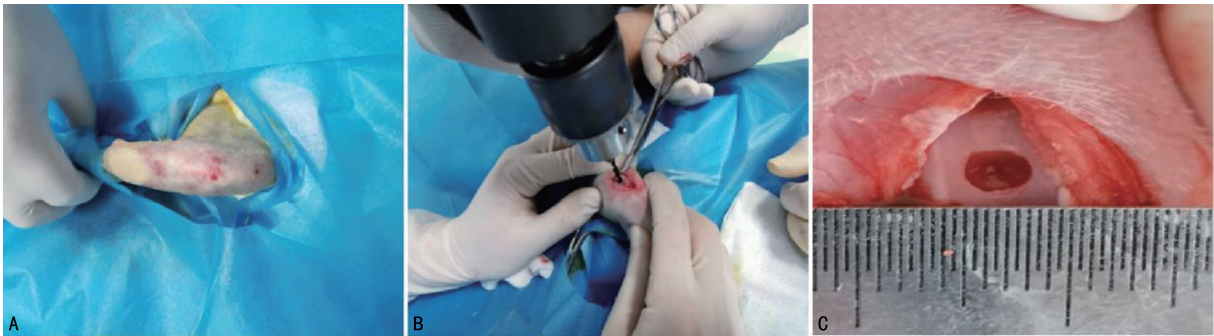
2.2 鬼笔环肽染色

将 BMSCs 种到 HAAM 上后,再次分别在 1、3、7 d 后通过鬼笔环肽染色观察细胞在支架上的生长情况。结果显示:第 1 天,有少量的 BMSCs 在 HAAM 支架上生长,细胞的轮廓未发生明显的改变,说明 HAAM 支架的空间结构适合细胞的生长;第 3 天,BMSCs 的数量明显增加,几乎呈倍数生长,说明 BMSCs 生长可能达到了对数期;第 7 天,BMSCs 几乎长满整个 HAAM 支架,见图 4。



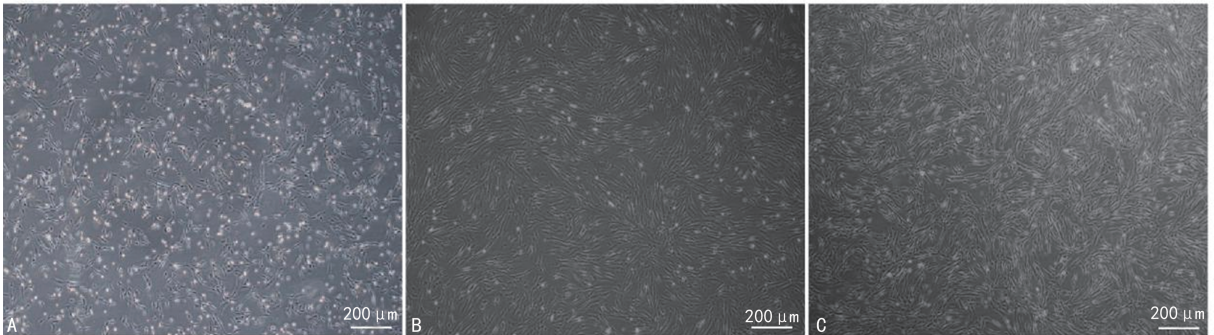
A:分离胎盘上的羊膜;B:将羊膜用 0.25% 的胰酶消化;C:将脱细胞处理后的羊膜(HAAM)平铺在 6 孔板。

图 1 HAAM 的制备过程



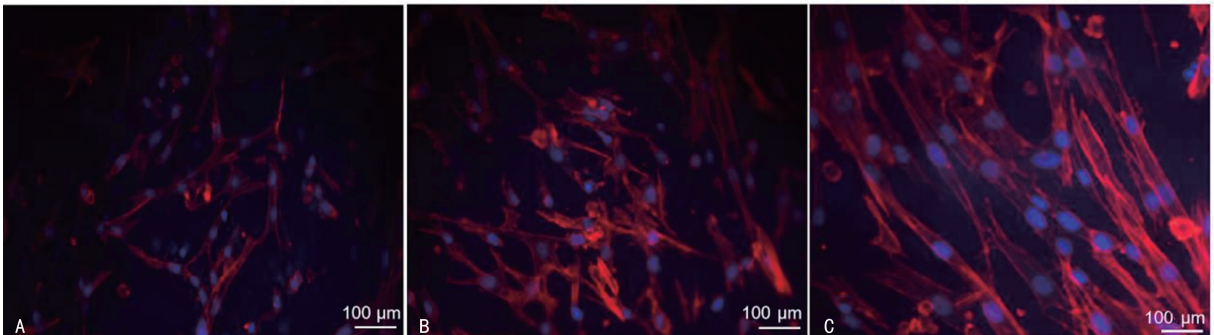
A:手术区域消毒;B:在股骨滑车处造一直径为 3.5 mm,深度为 3.0 mm 的骨软骨缺损;C:成功制作骨软骨缺损模型。

图 2 动物手术操作过程



A:P0,呈圆形或椭圆形;B:P1,呈长梭形;C:P3,呈明显的涡旋状贴壁生长。

图 3 兔 BMSCs 的形态



A:第 1 天,支架上可见少量细胞;B:第 3 天,大量细胞在支架上;C:第 7 天,细胞几乎长满整个支架,细胞的轮廓均未发生明显的改变。

图 4 兔笔环肽染色

2.3 体内实验结果

术后 3 个月,空白对照组缺损处未见明显的修复组织,仍可见缺损的存在;HAAM 组可见缺损处有修复组织的填充,但是缺损处表面不光滑,与周围正常组织在色泽上有明显的差异;HAAM+BMSCs 组修

复组织几乎完全填满了的缺损处,且表面光滑,色泽与正常软骨相似,与正常软骨组织连接的边界几乎完全消失,见图 5。对术后 3 个月标本进行 HE、甲苯胺蓝染色,观察各组软骨的修复效果。空白对照组 HE 染色显示缺损仍有较大的缺口存在,未见明显的

再生组织,与正常组织交界明显;甲苯胺蓝染色呈阴性,说明没有软骨的再生,修复效果较差;HAAM 组 HE 染色可见大量的新生组织,缺损处可见修复组织的填充,但是缺损处表面不光滑、不规则,与正常软骨组织差异明显;甲苯胺蓝染色呈弱阳性,虽然有

部分的新生软骨的存在,但是其与正常的软骨有一定的差异;HAAM+BMSCs 组 HE 染色结果显示缺损的关节软骨部分被大量的新生组织填充,几乎完全填满,并且与周围的软骨正常组织结构几乎相同;甲苯胺蓝染色呈强阳性,有大量新生软骨的存在,见图 6。



A:空白对照组;B:HAAM 组;C:HAAM+BMSCs 组;D:大体评分(O'Driscoll 组织学评分)。

图 5 大体标本

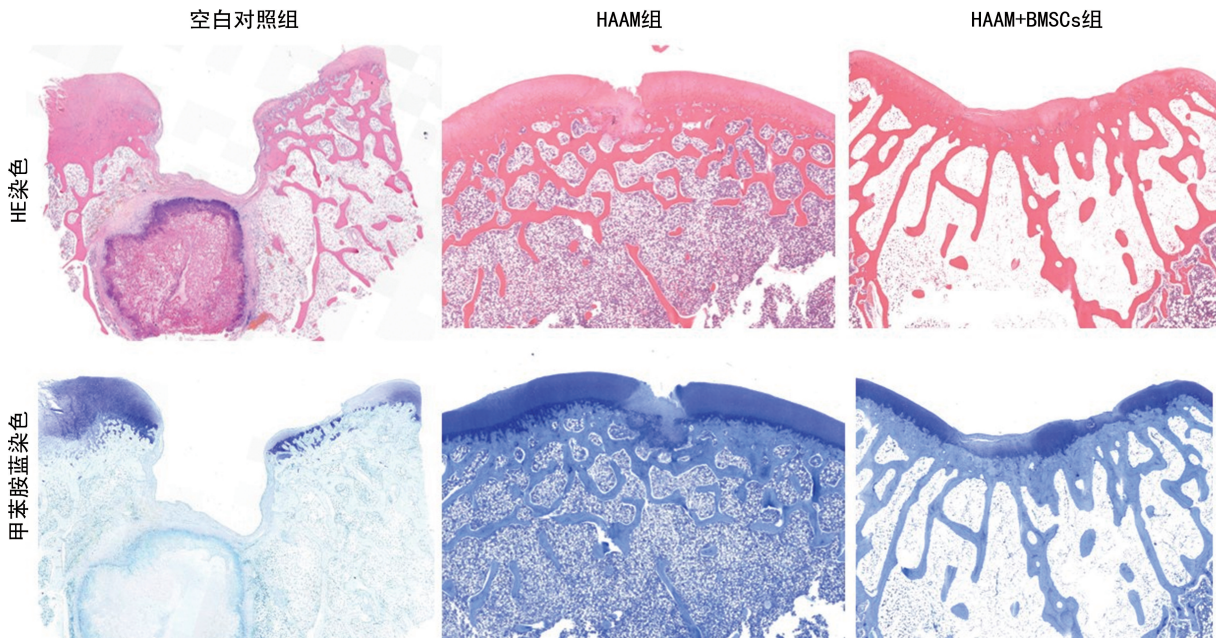


图 6 组织学检测(×200)

3 讨 论

关节软骨损伤的修复是临床上的一大难题,尽管目前有很多种治疗软骨损伤的方法,但是其远期效果均不是很理想。目前常用手术方式包括:自体软骨细胞移植、骨软骨移植、微骨折技术等^[19-23]。虽然自体软骨细胞移植在前瞻性随机试验中取得了好的结果,但也存在一些问题,如需要两次手术和高治疗成本^[19-21];骨软骨移植在短期内具有良好的效果,但是与自体软骨细胞移植相比,骨软骨移植术后 10 年的失败率(55% vs. 17%)明显增加^[22];微骨折的短期症状改善效果较好,但术后 2 年可见纤维组织再生,而且有临床症状复发的情况出现^[23]。

本实验通过组织工程技术的方式从支架材料和种子细胞方向入手,旨在为关节软骨的修复提供新的思路。支架材料具有负载种子细胞、为细胞提供生长

微环境的作用,是组织工程的一大关键。因此,本实验通过使用一种天然的支架材料来探究其对软骨损伤修复的作用。人羊膜是一种透明的薄膜,具有丰富的细胞外基质成分,主要有透明质酸、纤连蛋白、胶原蛋白等。由于其具有抗炎性、来源广泛等优点,已经广泛应用于基础研究甚至临床。HAAM 通过人羊膜脱细胞处理而成,其细胞外基质仍被保留,具有较好的生物相容性。相关实验研究也证实了 HAAM 支架具有良好的生物相容性^[24]。此外,也有研究证实了 HAAM 对软骨的损伤修复具有一定的促进作用,这都为本次实验提供了理论基础。本实验采用了一种简单、快速的方法成功制备了 HAAM 支架,虽然之前也有相关研究报告通过不同的方法将人羊膜脱细胞处理,从而制备 HAAM 支架,但是本实验通过对以前的方法进行改进,缩短了胰酶对新鲜羊膜的作用时

间,从而最大限度地保留了羊膜的细胞外基质成分,为细胞的种植提供了较好的微环境^[25]。HAAM 支架较其他支架而言具有独特的优势,例如:来源广泛、价格低廉、不存在道德伦理争议、制备过程简单等。因此,本实验选取了操作简单、价格低廉、来源广泛的方法成功制备并提取了组织工程的支架材料和种子细胞。将种子细胞种植到支架材料上通过扫描电镜和鬼笔环肽染色观察到细胞在支架上生长较好,随着培养时间的延长细胞在支架上不断增殖,说明支架材料适合细胞的生长。体内实验通过将种子细胞在 HAAM 支架上培养后移植到兔股骨滑车软骨缺损处,观察其对软骨损伤的修复效果。结果提示:HAAM 有一定的软骨修复效果,但是 HAAM+BMSCs 的修复效果较 HAAM 组有明显的差异。分析产生该结果的原因可能有以下几点:(1)HAAM 支架能够为缺损处细胞的募集和生长提供较好的微环境,从而有利于软骨的修复;(2)HAAM 支架复合 BMSCs 对软骨损伤修复有明显作用,说明 BMSCs 在软骨损伤的修复的过程中扮演着重要的角色;(3)HAAM 支架可能对关节腔内的干细胞及软骨下骨的 BMSCs 有一定的招募作用,使周围的干细胞迁徙到受损的部位从而起到一定的修复作用。当软骨损伤后,关节内或周围的 BMSCs 立即调动,参与内源性修复^[26],具体是何种 BMSCs 发挥最明显的作用目前还不能明确,虽然有研究已经证实损伤后的骨髓 BMSCs 是软骨损伤后修复的主要细胞来源^[26]。但可以肯定的是软骨损伤后 BMSCs 对其损伤的修复有一定的作用。因此,本实验支架负载细胞组其修复效果最好,说明 BMSCs 确实发挥了作用。后续的实验还需进一步通过 HAAM 支架负载不同的间充质来观察其对软骨损伤的修复效果。

本实验未设置单纯的 BMSCs 组,因为单纯将细胞移植到受损的关节软骨缺损处很难保证细胞在局部发挥作用,可能在关节液的影响下流失。本实验有以下几点不足:(1)本实验观察的软骨修复时间为 3 个月,软骨损伤修复是一个缓慢的过程,因此,后续实验还需进一步延长观察时间,从远期观察 HAAM 复合 BMSCs 对软骨损伤修复的作用;(2)本实验仅仅观察了一个时间点的软骨修复情况,软骨损伤修复是一个动态的、逐渐变化的过程,因此,还需要进一步完善相关实验,设置多个时间点动态的观察软骨的修复情况;(3)本实验虽然证实了 HAAM+BMSCs 具有促进软骨修复的作用,但其具体机制不明确,还需要进一步的研究明确其机制。

参考文献

- [1] CENTURION L S, JARVINEN E, MUHONEN V, et al. An injectable, in situ forming type II collagen/hyaluronic acid hydrogel vehicle for chondrocyte delivery in cartilage tissue engineering[J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2014, 4(2): 149-158.
- [2] HUEY D J, HU J C, ATHANASIOU K A, et al. Unlike bone, cartilage regeneration remains elusive[J]. *Science*, 2012, 338(6109): 917-921.
- [3] RIBOH J C, COLE B J, FARR J. Particulated articular cartilage for symptomatic chondral defects of the knee[J]. *Curr Rev Musculoskelet Med*, 2015, 8(4): 429-435.
- [4] NUKAVARAPU S P, DORCEMUS D L. Osteochondral tissue engineering: current strategies and challenges[J]. *Biotechnol Adv*, 2013, 31(5): 706-721.
- [5] LOTZ M K, CARAMES B. Autophagy and cartilage homeostasis mechanisms in joint health, aging and OA[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2011, 7(10): 579-587.
- [6] GAVENIS K, SCHMIDT-ROHLFING B, ANDEREYA S, et al. A cell-free collagen type I device for the treatment of focal cartilage defects[J]. *Artif Organs*, 2010, 34(1): 79-83.
- [7] KON E, DELCOGLIANO M, FILARDO G, et al. A novel nano-composite multi-layered biomaterial for treatment of osteochondral lesions: technique note and an early stability pilot clinical trial[J]. *Injury*, 2010, 41(7): 693-701.
- [8] COBURN J M, GIBSON M, MONAGLE S, et al. Bioinspired nanofibers support chondrogenesis for articular cartilage repair[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(25): 10012-10017.
- [9] LIGUO S, LING Q, RUI Z, et al. Effects of mechanical stretch on cell proliferation and matrix formation of mesenchymal stem cell and anterior cruciate ligament fibroblast[J]. *Stem Cell Int*, 2016, 2016: 1-10.
- [10] LU J, CHAMBERLAIN C S, JI M L, et al. Tendon-to-bone healing in a rat extra-articular bone tunnel model: a comparison of fresh autologous bone marrow and bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *Am J Sports Med*, 2019, 47(11): 2729-2736.
- [11] RBIA N, BULSTRA L F, LEWALLEN E A, et al. Seeding decellularized nerve allografts with adipose-derived mesenchymal stromal cells: an in vitro analysis of the gene expression and growth factors produced[J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2019, 72(8): 1316-1325.
- [12] YANG M, LIU H, WANG Y, et al. Hypoxia reduces the osteogenic differentiation of peripheral blood mesenchymal stem cells by up-regulating Notch-1 expression[J]. *Connect Tissue Res*, 2019, 60(6): 583-596.

[1] CENTURION L S, JARVINEN E, MUHONEN V, et al. An injectable, in situ forming type II collagen/hyaluronic acid hydrogel vehicle for chondrocyte delivery in cartilage tissue engineering[J].

- [13] HASHIMOTO R, KATOH Y, MIYAMOTO Y, et al. Increased extracellular and intracellular Ca^{2+} lead to adipocyte accumulation in bone marrow stromal cells by different mechanisms [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 457(4):647-652.
- [14] CHEN X, LIU Y, DING W, et al. Mechanical stretch-induced osteogenic differentiation of human jaw bone marrow mesenchymal stem cells (hJBMMSCs) via inhibition of the NF- κ B pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2):207.
- [15] BORNES T, JOMHA N, MULET-SIERRA A, et al. Porous scaffold seeding and chondrogenic differentiation of BMSC seeded scaffolds [J]. *Bio Protoc*, 2015, 5(24):e1693.
- [16] MALGORZATA L, TOMASZ G. Amniotic membrane: new concepts for an old dressing [J]. *Wound Repair Regen*, 2015, 23(1):145.
- [17] KARALASHVILI L, KAKABADZE A, VYSHNEVSKA G, et al. Acellular human amniotic membrane as a three-dimensional scaffold for the treatment of mucogingival defects [J]. *Georgian Med News*, 2015, 245:84-89.
- [18] ZELEN C M, SNYDER R J, SERENA T E, et al. The use of human amnion/chorion membrane in the clinical setting for lower extremity repair [J]. *Clin Podiat Med Surg*, 2015, 32(1):135-146.
- [19] KATAGIRI H, MENDES L F, LUYTEN F P. Definition of a critical size osteochondral knee defect and its negative effect on the surrounding articular cartilage in the rat [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2017, 25(9):1531-1540.
- [20] HUNZIKER E B, LIPPUNER K, KEEL M J, et al. An educational review of cartilage repair: precepts & practice-myths & misconceptions-progress & prospects [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, 23(3):334-350.
- [21] NIETHAMMER T R, PIETSCHMANN M F, HORNG A, et al. Graft hypertrophy of matrix-based autologous chondrocyte implantation: a two year follow-up study of NOVOCART 3D implantation in the knee [J]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2014, 22(6):1329-1336.
- [22] BENTLEY G, BIANI L C, VIJAYAN S, et al. Minimum ten-year results of a prospective randomized study of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for symptomatic articular cartilage lesions of the knee [J]. *J Bone Joint Surg Br*, 2012, 94(4):504-509.
- [23] VANLAUWE J, SARIS D B, VICTOR J, et al. Five-year outcome of characterized chondrocyte implantation versus microfracture for symptomatic cartilage defects of the knee: early treatment matters [J]. *Am J Sports Med*, 2011, 39(12):2566-2574.
- [24] CHEN Y J, CHUNG M C, YAO C C J, et al. The effects of acellular amniotic membrane matrix on osteogenic differentiation and ERK1/2 signaling in human dental apical papilla cells [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(2):455-463.
- [25] NAZEMPOUR A, VAN WIE B J. Chondrocytes, mesenchymal stem cells, and their combination in articular cartilage regenerative medicine [J]. *Ann Biomed Eng*, 2016, 44(5):1325-1354.
- [26] SWIESZKOWSKI W, TUAN B H, KURZYDLOWSKI K J. Repair and regeneration of osteochondral defects in the articular joints [J]. *Biomol Eng*, 2007, 24(5):489-495.

(收稿日期:2021-09-22 修回日期:2022-02-08)

(上接第 1653 页)

- [13] FAN X, ZHAO Y. miR-451a inhibits cancer growth, epithelial-mesenchymal transition and induces apoptosis in papillary thyroid cancer by targeting PSMB8 [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(12):8067-8075.
- [14] BUONFIGLIOLI A, EFE I E, GUNEYKAYA D, et al. let-7 microRNAs regulate microglial function and suppress glioma growth through toll-like receptor 7 [J]. *Cell Rep*, 2019, 29(11):3460-3471.
- [15] LI C, LIU Z, YANG K, et al. miR-133b inhibits glioma cell proliferation and invasion by targeting Sirt1 [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(24):36247-36254.
- [16] PENTICUFF J C, WOOLBRIGHT B L, SIELECKI T M, et al. MIF family proteins in genitourinary cancer: tumorigenic roles and therapeutic potential [J]. *Nat Rev Urol*, 2019, 16(5):318-328.

(收稿日期:2021-10-08 修回日期:2022-02-11)