

· 基础研究 ·

脐带间充质干细胞分泌的外泌体对骨性关节炎模型大鼠的镇痛作用

周雯雯 王琳 李鑫河 付奕翎 李娟 李铁山

青岛大学附属医院康复二科, 青岛 266021

通信作者: 李铁山, Email: tieshanl@126.com

【摘要】 目的 观察脐带间充质干细胞分泌的外泌体对骨性关节炎模型大鼠疼痛行为、软骨修复及背根神经节(DRG)中转录激活因子3(ATF-3)及生长相关蛋白43(GAP-43)表达的影响,并探讨外泌体治疗关节炎疼痛的可能机制。**方法** 采用随机数字表法将54只雄性SD大鼠分为假手术组、模型组和外泌体组,每组18只,除假手术组外,其余2组均于左后肢膝关节腔注射4 mg/50 μ l 单碘乙酸钠(MIA)建立疼痛模型,假手术组大鼠关节腔注射50 μ l 生理盐水作为对照。造模14天后,假手术组和模型组大鼠左后肢膝关节腔注射50 μ l 生理盐水,外泌体组大鼠注射50 μ l 外泌体。于造模前1天、造模后第7、14天及给药后第7、14、28天对各组大鼠机械痛阈和热痛阈进行测定;于测试后取出相应时间点DRG,采用免疫蛋白印迹法检测ATF-3及GAP-43表达情况;并取出相应时间点各组大鼠膝关节,采用苏木素伊红(HE)染色检测软骨修复情况。**结果** 与模型组比较,外泌体组在给药后第7天时,机械痛阈值及热痛阈值均明显增加,直到给药后第28天时差异均具有统计学意义($P<0.05$);DRG水平ATF-3蛋白表达显著降低($P<0.01$),GAP-43蛋白表达显著增加($P<0.001$);膝关节水平使用国际骨关节炎研究所(OARSI)软骨评分,在外泌体给药28天后差异具有统计学意义($P<0.01$)。**结论** 外泌体可减轻MIA诱导的关节炎疼痛,其镇痛机制可能与减轻神经损伤、促进神经及软骨修复有关,且神经修复早于软骨修复。

【关键词】 外泌体; 转录激活因子; 生长相关蛋白; 软骨修复; 神经病理性疼痛

基金项目:山东省自然科学基金(ZR2018MH031)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2022.03.001

The analgesic mechanism of exosomes derived from umbilical cord mesenchymal stem cells in rats modelling osteoarthritis

Zhou Wenwen, Wang Lin, Li Xinhe, Fu Yiling, Li Juan, Li Tieshan

Department of Rehabilitation Medicine, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266021, China

Corresponding author: Li Tieshan, Email: tieshanl@126.com

【Abstract】 Objective To observe any effect of exosomes derived from umbilical cord mesenchymal stem cells on pain, cartilage repair and the expression of transcriptional activator 3 (ATF-3) and growth related protein 43 (GAP-43) in the dorsal root ganglia (DRG), as well as to explore the mechanism of their relieving pain. **Methods** Fifty-four male Sprague-Dawley rats were randomly divided into a sham-operation group, a monoiodoacetate group and an exosome group, each of 18. The knee cavities of the left hind limbs of all of the rats except those in the sham-operation group were injected with 50 μ l of monoiodoacetate to establish an arthritis pain model. The sham-operation group received only 50 μ l of saline solution as controls. Two weeks after the modelling, the knee joint cavities of the exosome group were injected with 50 μ l of exosomes, while the other two groups were injected with 50 μ l of normal saline. The rats' mechanical and thermal pain thresholds were measured 1 day before the modeling, 7 and 14 days after the monoiodoacetate injection, as well as 7, 14 and 28 days after the exosome injection. Western blotting was used to detect the expression of ATF-3 and GAP-43 in the rats' DRG, while hematoxylin and eosin staining was used to detect any cartilage repair. **Results** Compared with the monoiodoacetate group, the latency of the mechanical and thermal pain thresholds had increased significantly in the exosome group 7 days after the exosome injection. The difference remained significant until the 28th day after the injection. The expression of ATF-3 protein decreased significantly and that of the GAP-43 protein increased significantly. Significant differences were observed in the average Osteoarthritis Research Society International (OARSI) knee cartilage score. **Conclusions** Exosomes can alleviate the pain induced by monoiodoacetate adjuvant. The analgesic mechanism may be related to reducing nerve injury and promoting nerve and cartilage repair, with the nerve repair earlier than cartilage repair.

【Key words】 Exosomes; Activating transcription factors; Growth associated protein; Cartilage repair;

Neuropathic pain

Funding: Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2018MH031)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2022.03.001

骨性关节炎是最普遍的关节疾病之一,会导致疼痛、僵硬和残疾^[1];而疼痛是骨性关节炎中最常见最突出的临床特征。60 岁以上的疼痛患者中,由骨性关节炎引起的膝关节疼痛发生率达 12%^[2],目前传统治疗(如口服非甾类抗炎药)会产生肾和心脏毒性等不良反应,且疗效会随着时间推移降低^[3]。对于疼痛较严重的患者,全膝关节置换术成为最后的选择,但多达 20% 的患者术后仍会继续出现膝关节疼痛^[4]。

近年来,间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)被广泛应用于治疗疼痛^[5]。有研究已证实, MSCs 在神经系统损伤模型的神经保护作用,并可减轻骨性关节炎疼痛^[6-7]。而脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cells, uMSCs)是存在于新生儿脐带组织中的一种多功能干细胞,具有天然获取优势,且分化潜力大、免疫原性弱、无道德伦理等问题^[8]。但几乎所有的 MSCs 都有其自身局限性(如分离采集和运输条件高),修复能力也会随着人体新陈代谢而减低,最终影响 MSCs 的活性及疗效。

随着研究深入,人们发现 MSCs 不仅能通过自身增殖分化替代受损组织,还可以分泌一种重要的微环境调控物质——外泌体(exosomes),实现对骨性关节炎的治疗作用^[9]。外泌体作为新型细胞通讯方式,装载有多种蛋白质、核酸、脂质等物质,是细胞间信号传导的重要媒介^[10]。前期临床研究发现,外泌体可促进软骨修复减轻骨性关节炎疼痛^[11];另有实验表明,外泌体可以抑制炎症减轻疼痛,但对关节软骨没有修复作用^[12]。本研究通过建立大鼠单碘乙酸钠(monosodium iodoacetate, MIA)诱导的膝关节骨性关节炎模型,旨在探讨关节腔内注射外泌体的疗效及其可能的作用机制。

材料与方法

一、实验动物

选取由青岛大学实验动物中心提供的雄性 Sprague-Dawley(SD)大鼠 54 只,体质量(170±20)g,分笼饲养,温度保持在(23±1)℃,白天(12 h)-黑夜(12 h)循环照明,大鼠自由摄食、饮水,进行适应性饲养 5 d,经青岛大学动物保护和使用委员会批准,实验动物均在麻醉下进行,并最大限度地减少痛苦和死亡。

二、主要实验试剂与仪器

主要试剂:MIA 和 GAPDH 抗体购自北京索莱宝

公司、转录激活因子 3(activating transcription factor 3, ATF-3)抗体、生长相关蛋白 43(growth associated protein 43, GAP-43)抗体、抗兔 IgG 单克隆二抗购自美国 Abcam 公司。

主要仪器:热辐射刺激仪(BME-410A, 中国)、Von Frey 细丝(North Coast 公司, 美国)、凝胶成像分析系统(美国 UVP 公司)、组织冰冻切片机(Leica, RM2235)、显微镜(Olympus, BX-51TF)、低温高速离心机(德国产)。

三、外泌体制备

外泌体由青岛海尔生物科技有限公司提供,从知情同意的产妇处收集脐带,并尽快处理,在添加 5% EliteGro(一种用于细胞培养的商业血清替代物)的培养基中培养。采用连续离心法分离 uMSC-外泌体。当 uMSCs 细胞贴壁生长汇合至 70%~80%时,收集上清液,通过 0.22 mm 过滤器过滤,并超速离心 70 min;然后经 PBS 洗涤后二次离心;最后将外泌体重新混合在 PBS 中,储存于-80℃直至使用。

四、模型建立及分组

54 只 SD 雄性大鼠,按随机数字表法取 18 只大鼠左膝关节腔注射 50 μl 生理盐水作为假手术组,其余大鼠左膝关节腔注射 4 mg/50 μl 的 MIA 建立疼痛模型,采用盲法注射,用 30 号针头穿刺 2.5 mm,造模后 14 d,采用疼痛行为学监测技术(机械痛阈足阈值和热痛阈潜伏期)检测大鼠疼痛行为学表现,出现触诱发痛、痛觉过敏的大鼠纳入本实验。造模 14 d 后,将造模成功的 36 只大鼠按随机数字表法分为模型组(18 只)和外泌体组(18 只)。由于目前使用外泌体治疗骨性关节炎浓度并没有统一标准,本研究参照 Tan 等^[13]研究,选择 100 μg/100 μl 浓度的外泌体。

五、机械痛阈测试

根据 Chaplan 等^[14]报道的方法,采用 Von Frey 细丝监测 50% 的撤足阈值(paw withdrawal threshold, PWT),以评估机械性疼痛。大鼠首先适应 30 min,观察者对分组并不清楚,在相应时间点,参照 Up-and-Down 方法,将一系列 Von Frey 细丝(0.4~15.0 g)从 2.0 g 的力度开始垂直刺激大鼠患侧后肢足底中部皮肤,并逐渐加压,直到出现抬足或舔足行为,从反应发生时继续测试 4~5 次,刺激间隔为 1 min,后用专用公式计算 50% 的 PWT。

六、热痛阈测试

根据 Messing 等^[15]报道的方法,采用冷热板测痛仪监测热痛阈;将大鼠放置于温度为 $(50.0\pm 0.5)^{\circ}\text{C}$ 的热平板上,从开始至大鼠出现抬足或舔足行为为热缩足反射潜伏期(paw withdrawal latency, PWL),一旦大鼠出现阳性反应,立即将大鼠拿出。重复测量 3 次取平均值,测量间隔 5 min,观察者对分组并不清楚。

七、组织学观察

在各相应时间点,每组各取 3 只大鼠麻醉后,取大鼠左侧膝关节并置于 4°C 多聚甲醛中固定 6~8 h,经 8% 乙二胺四乙酸(EDTA)中脱钙 2~4 周,经石蜡包埋脱水后切片,行苏木素-伊红(haematoxylin and eosin, HE)染色,封片后采用国际骨关节炎研究协会(International Association for the Study of Osteoarthritis, OARSI)评分来评估^[16],然后将切片置于显微镜下观察,采用 Image J 1.36 版软件进行分析。

八、免疫蛋白印迹检测

在各相应时间点,每组各取 3 只大鼠,解剖取 L3~L5 背根神经节(dorsal root ganglion, DRG)组织置于冰冷裂解缓冲液中, 4°C 离心半径 5 cm,12 000 r/min 离心 10 min, 95°C 变性 5 min 后提取总蛋白液用于免疫蛋白印迹检测。浓缩胶恒压 80 V 约 30 min,12% 分离胶恒压 120 V 约 60 min,恒流 290 mA 电转移 60 min,摇床封闭 2 h,加入山羊抗大鼠 ATF-3/GAP-43 抗体孵育过夜,二抗室温摇床孵育 75 min,滴加发光液显色成像,通过 ImageJ 1.36 分析目标条带灰度值。

九、统计学方法

使用 SPSS 26.0 版统计学软件包进行数据分析处理,以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,对于疼痛行为学测试,采用重复测量双因素方差分析,组织学观察和免疫蛋白印迹采用单因素方差分析进行组间比较。 $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

一、外泌体对 MIA 大鼠机械痛阈及热痛阈的影响

造模前,各组大鼠 PWT 和 PWL 组间差异均无统计学意义($P>0.05$);关节腔注射 MIA 后,与假手术组相比,模型组注射侧 PWT 和 PWL 差异有统计学意义($P<0.001$),表明疼痛模型造模成功。外泌体给药后,与模型组大鼠比较,PWT 和 PWL 从给药后第 7 天开始明显增加并持续至第 28 天,差异均有统计学意义($P<0.01$),表明外泌体能提高疼痛大鼠机械痛阈及热痛阈。详见图 1。

二、外泌体对 MIA 大鼠软骨修复的影响

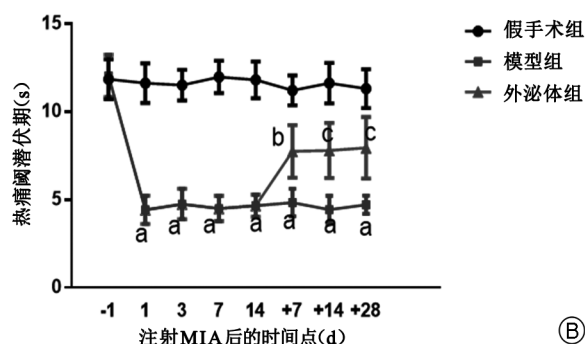
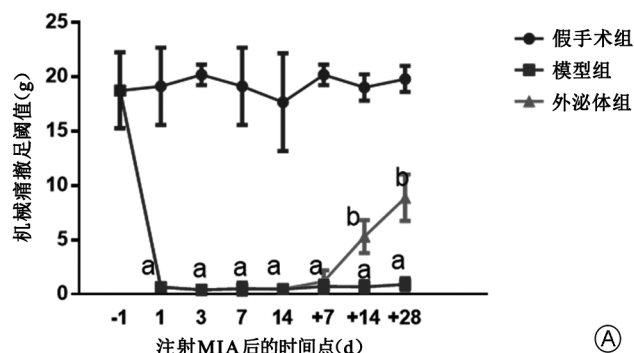
在各相应时间点,采集膝关节标本进行 HE 染色,假手术组软骨表面光滑,软骨细胞无增大、变形或增殖;注射造模 7 d、14 d 后,模型组和外泌体组均可以观察到软骨表面不连续并伴随细胞增殖、死亡及软骨基质丢失;外泌体注射 28 d 后,可以观察到纤维软骨修复,详见图 2。

采用 OARSI 评分对各组不同时间点的软骨进行分级,外泌体注射 28 d 后,与模型组相比,差异有统计学意义($P<0.01$),表明外泌体注射后期可以促进软骨修复。详见图 3。

三、外泌体对 ATF-3 和 GAP-43 蛋白表达的影响

免疫蛋白印迹检测通过分析条带发现,与模型组注射前 1 天比较,造模第 14 天时,ATF-3 和 GAP-43 蛋白表达显著增多($P<0.001$),详见图 4。

给药后,外泌体组的 ATF-3 蛋白的表达减少,从第 14 天开始一直持续到 28 d,与模型组相比,差异均有统计学意义($P<0.01$),而 GAP-43 蛋白表达量增加,从第 7 天开始一直持续到 28 d,差异有统计学意义($P<0.001$),表明外泌体可以减少 ATF-3 的表达和增加 GAP-43 的表达,详见图 5。



注:与假手术组同时间点比较,^a $P<0.001$;与模型组同时间点比较,^b $P<0.05$,^c $P<0.001$

图 1 关节腔注射外泌体或生理盐水对大鼠后肢机械痛及热痛阈的影响

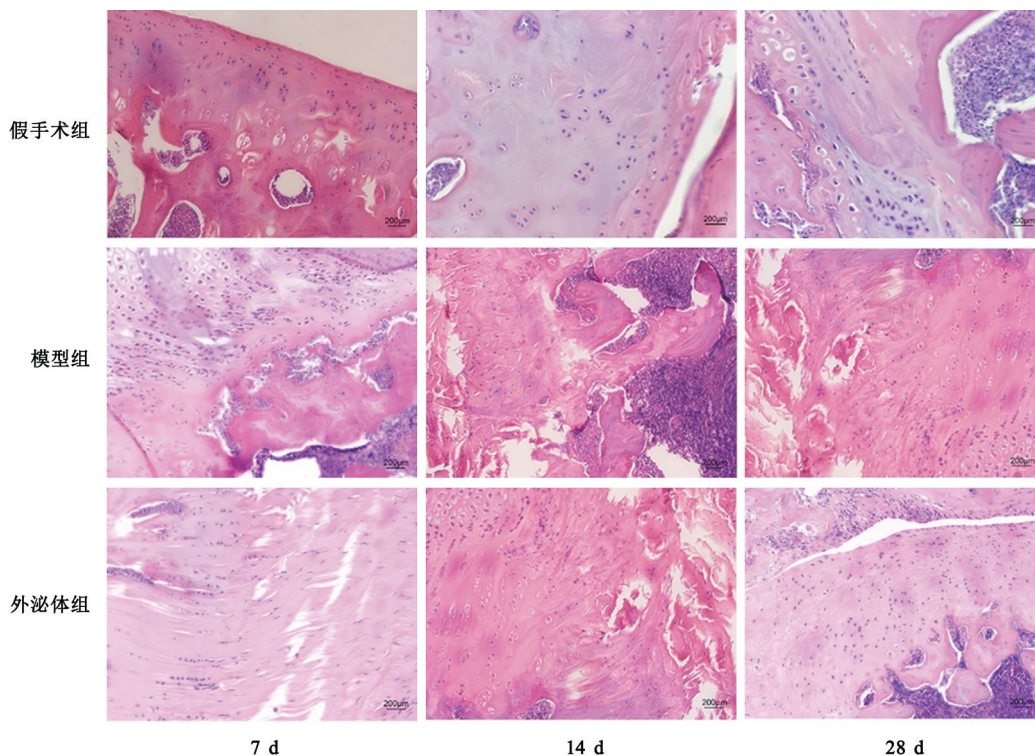
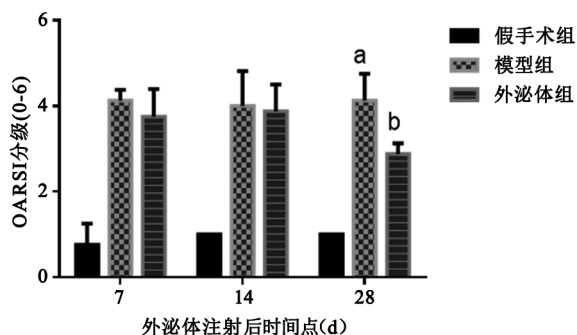


图2 3组大鼠不同时间点软骨的组织学镜下观(HE染色,×100)



注:与假手术组同时时间点比较,^a $P<0.001$;与模型组同时时间点比较,^b $P<0.01$

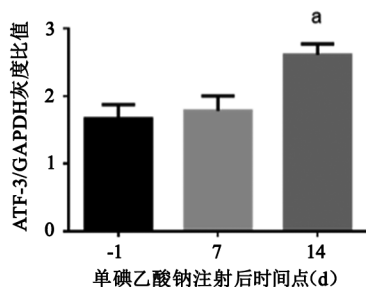
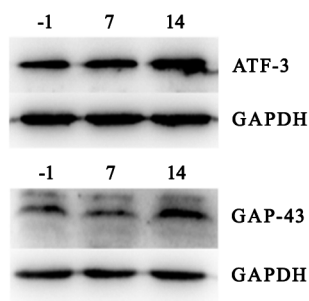
图3 关节腔注射外泌体或生理盐水对大鼠软骨修复的影响

讨论

本研究采用 MIA 诱导的膝骨性关节炎疼痛模型,

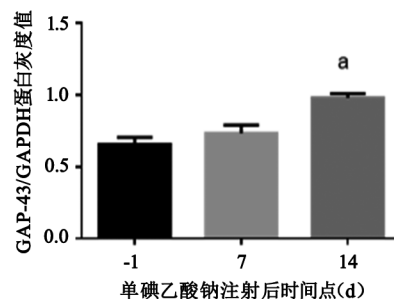
该模型特征与临床所见相似。在 MIA 诱导的骨性关节炎模型中,最常用的注射剂量为 1、2 或 4 mg,不同剂量的 MIA 会导致不同的病理生理学表现,2 mg 剂量与 1 mg 剂量相比,会导致更大程度的神经元损伤^[17]。研究表明,2 mg 以上剂量的 MIA 模型炎症通常在 1 周内消退,2 周内逐渐稳定并出现神经病理性痛成分^[18]。本研究选择 4 mg 剂量 MIA 建立模型,造模后 2 周作为外泌体给药时间点。

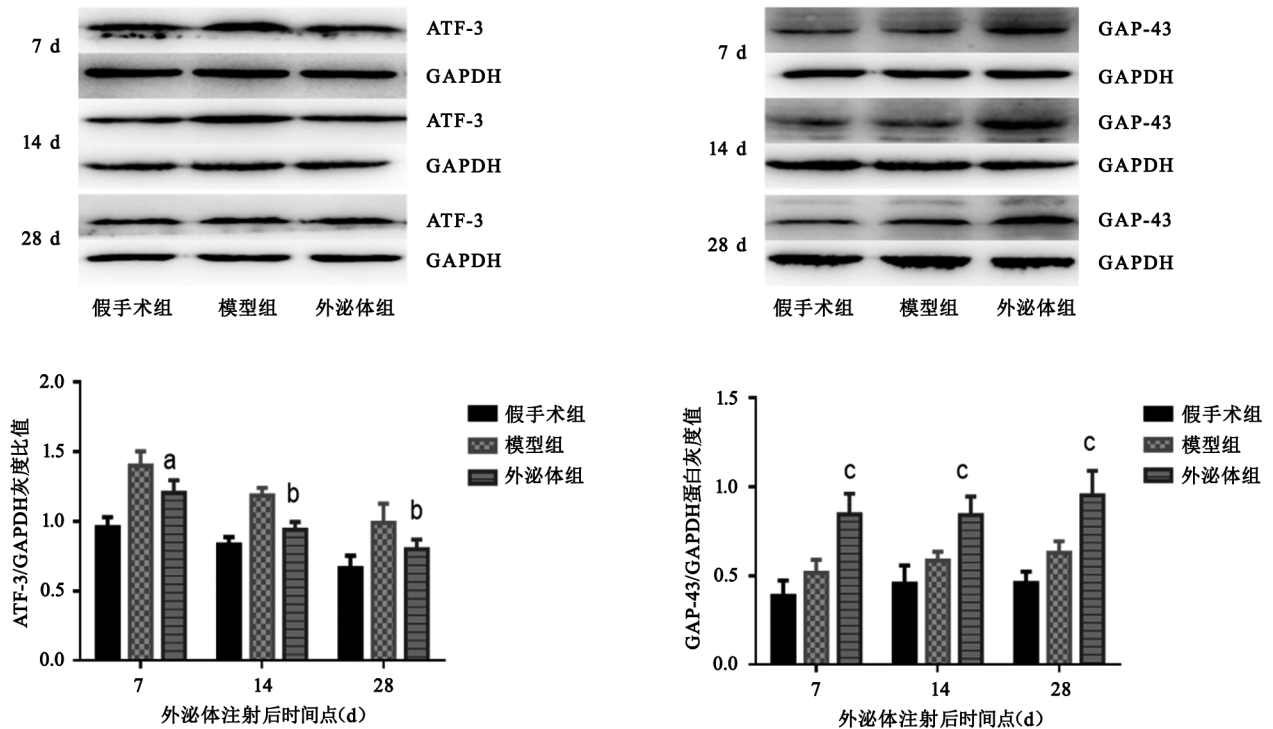
本研究行为学检测结果显示,关节腔注射 MIA 后,与假手术组相比,模型组注射侧 PWT 和 PWL 均显著降低($P<0.001$),且注射当天开始下降,持续到观察的第 42 天差异仍具有统计学意义,表明痛觉过敏和异常性疼痛参与骨性关节炎疼痛的发病机制,这与 Mapp 等^[19]的研究发现一致;与模型组相比,关节腔注射



注:与造模前 1 天比较,^a $P<0.001$

图4 不同时间点实验大鼠的蛋白表达及比较





注:与模型组同时时间点比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$,^c $P<0.001$

图 5 各组不同时间点大鼠的蛋白表达及比较

外泌体后,PWT 和 PWL 从给药第 7 天后开始显著提高,一直持续到第 28 天仍非常显著,表明外泌体能提高疼痛大鼠机械痛阈及热痛阈。这与 Lei 等^[11]的研究结果一致,说明外泌体可减轻 MIA 诱导的骨性关节炎疼痛。

本研究采用 HE 染色观察外泌体对关节软骨的修复作用,通过组织病理学观察发现,注射外泌体 28 d 后的 OARSI 评分与模型组差异有统计学意义($P<0.01$),由此可推断外泌体能促进软骨修复,这与 Lei 等^[11]的研究结果一致,但后者只在外泌体注射 6 周后观察到软骨修复,没有对软骨变化进行动态研究;Zhang 等^[20]和 Wang 等^[21]也观察到外泌体注射 8 周和 12 周后可促进软骨修复;而 Sakamoto 等^[12]仅在注射药物 2 周后进行观察,未见软骨修复。本研究显示外泌体注射 28 d 后出现软骨修复,但疼痛行为学检测显示 7 d 时疼痛已明显减轻,说明软骨修复之前疼痛减轻可能存在其它机制。因此,本研究进一步观察了 DRG 中相关蛋白的表达。

据报道,ATF-3 是神经损伤的选择性标志物,ATF-3 在 DRG 神经元中表达的增加表明存在神经损伤^[22],本研究结果显示,与假手术组相比,模型组注射 MIA 造模后第 7 天 ATF-3 的表达差异无统计学意义($P>0.05$),而造模第 14 天时的 ATF-3 表达显著增多,且组间差异有统计学意义($P<0.001$);但经外泌体给药后,

与模型组相比,外泌体组的 ATF-3 的表达从第 7 天开始显著降低,一直持续到 28 d,这说明注射 MIA 后可以导致神经损伤,而外泌体可以减轻神经损伤。

GAP-43 是神经纤维再生的标志物,临床研究中,GAP-43 表达的增加意味着神经发生修复^[23]。本研究结果还发现,与假手术组相比,注射 MIA 后,模型组在造模后第 7 天 GAP-43 的表达差异无统计学意义($P>0.05$),而造模第 14 天时 GAP-43 蛋白表达显著增多,且组间差异有统计学意义($P<0.001$);但经外泌体给药后,与模型组相比,外泌体组的 GAP-43 的表达从第 7 天开始显著增加,一直持续到 28 d,且差异有统计学意义($P<0.001$),这与 Jaken 等^[24]的研究一致。近年来,有人提出 GAP-43 除促进神经修复外,还被认为是致痛性因子,与神经病理性痛的发生相关。在 Jaken 等^[24]建立的神经病变诱导模型中,使用免疫调节剂丙戊茶碱治疗后,机械性疼痛超敏显著降低,但 GAP-43 表达增加;本研究亦发现,外泌体治疗后,GAP-43 表达增加,但机械痛和热痛明显改善,由此可见 GAP-43 的增加与神经病理性痛关系的研究并不确切,仍需进一步探讨。

软骨修复与疼痛好转之间是否有关联一直存在争议^[11-12],本研究发现,疼痛行为学改变和软骨修复并不同步,推测在外泌体对疼痛的治疗中,减轻神经损伤、促进神经修复可能先于软骨修复。本研究还发现

外泌体可以促进神经修复减轻疼痛,并对软骨也具有修复作用,但发挥作用的具体机制尚不清楚,目前认为其作用方式主要有:①外泌体膜上配体与靶细胞膜上受体结合改变靶细胞生物传递通路;②外泌体与靶细胞融合释放其内含的蛋白质、miRNA 等物质实现信息转运发挥功能;③外泌体释放胞内物质作用于靶细胞表面受体,完成信息传递产生生物学效应;但其通过何种方式发挥作用还有待于后续进一步研究。

综上所述,uMSCs 分泌的外泌体能有效缓解 MIA 诱导的骨性关节炎疼痛,其机制可能与减轻神经损伤、促进神经修复以及软骨修复有关,且神经修复早于软骨修复,其在治疗以神经病理性痛为主的晚期骨性关节炎具有重要临床价值,可为临床治疗提供新的选择。

参 考 文 献

- [1] Cross M, Smith E, Hoy D, et al. The global burden of hip and knee osteoarthritis: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study [J]. *Ann Rheum Dis*, 2014, 73 (7): 1323-1330. DOI: 10.1136/annrheumdis-2013-204763.
- [2] Neogi T. The epidemiology and impact of pain in osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21 (9): 1145-1153. DOI: 10.1016/j.joca.2013.03.018
- [3] Hermann W, Lambova S, Muller-Ladner U. Current treatment options for osteoarthritis [J]. *Curr Rheumatol Rev*, 2018, 14 (2): 108-116. DOI: 10.2174/1573397113666170829155149.
- [4] Singh JA, Kundukulam J, Riddle DL, et al. Early postoperative mortality following joint arthroplasty: a systematic review [J]. *J Rheumatol*, 2011, 38 (7): 1507-1513. DOI: 10.3899/jrheum.110280.
- [5] Han YH, Kim KH, Abdi S, et al. Stem cell therapy in pain medicine [J]. *Korean J Pain*, 2019, 32 (4): 245-255. DOI: 10.3344/kjp.2019.32.4.245.
- [6] Abel, Torres-Espín, Dora, et al. Neuroprotection and axonal regeneration after lumbar ventral root avulsion by re-implantation and mesenchymal stem cells transplant combined therapy [J]. *Neurotherapeutics*, 2013, 10 (2): 354-368. DOI: 10.1007/s13311-013-0178-5.
- [7] Cao Q, Benton RL, Whitemore SR. Stem cell repair of central nervous system injury [J]. *J Neurosci Res*, 2002, 68 (5): 501-510. DOI: 10.1002/jnr.10240.
- [8] Fellows CR, Matta C, Zakany R, et al. Adipose, bone marrow and synovial joint-derived mesenchymal stem cells for cartilage repair [J]. *Front Genet*, 2016, 7: 213. DOI: 10.3389/fgene.2016.00213.
- [9] Basu J, Ludlow JW. Exosomes for repair, regeneration and rejuvenation [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2016, 16 (4): 489-506. DOI: 10.1517/14712598.2016.1131976.
- [10] Iraci N, Leonardi T, Gessler F, et al. Focus on extracellular vesicles: physiological role and signalling properties of extracellular membrane vesicles [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17 (2): 171. DOI: 10.3390/ijms17020171.
- [11] He L, He T, Xing J, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes protect cartilage damage and relieve knee osteoarthritis pain in a rat model of osteoarthritis [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11 (1): 276. DOI: 10.1186/s13287-020-01781-w.
- [12] Sakamoto T, Miyazaki T, Watanabe S, et al. Intraarticular injection of processed lipoaspirate cells has anti-inflammatory and analgesic effects but does not improve degenerative changes in murine monoiodoacetate-induced osteoarthritis [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2019, 20 (1): 335. DOI: 10.1186/s12891-019-2710-1.
- [13] Tan SSH, Tjio CKE, Wong JRY, et al. Mesenchymal stem cell exosomes for cartilage regeneration: a systematic review of preclinical in vivo studies [J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2021, 27 (1): 1-13. DOI: 10.1089/ten.TEB.2019.0326.
- [14] Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw [J]. *J Neurosci Methods*, 1994, 53 (1): 55-63. DOI: 10.1016/0165-0270(94)90144-9.
- [15] Messing RB, Rijk H, Rigter H. Facilitation of hot-plate response learning by pre- and posttraining naltrexone administration [J]. *Psychopharmacology*, 1983, 81: 33-36. DOI: 10.1007/BF00439270.
- [16] Gerwin N, Bendele AM, Glasson S, et al. The OARSI histopathology initiative - recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18 (Suppl3): S24-S34. DOI: 10.1016/j.joca.2010.05.030.
- [17] Pomonis JD, Boulet JM, Gottshall SL, et al. Development and pharmacological characterization of a rat model of osteoarthritis pain [J]. *Pain*, 2005, 114 (3): 339-346. DOI: 10.1016/j.pain.2004.11.008.
- [18] Clements KM, Ball AD, Jones HB, et al. Cellular and histopathological changes in the infrapatellar fat pad in the monoiodoacetate model of osteoarthritis pain [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17 (6): 805-812. DOI: 10.1016/j.joca.2008.11.002.
- [19] Mapp PI, Sagar DR, Ashraf S, et al. Differences in structural and pain phenotypes in the sodium monoiodoacetate and meniscal transection models of osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21 (9): 1336-1345. DOI: 10.1016/j.joca.2013.06.031.
- [20] Zhang S, Chu WC, Lai RC, et al. Exosomes derived from human embryonic mesenchymal stem cells promote osteochondral regeneration [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24 (12): 2135-2140. DOI: 10.1016/j.joca.2016.06.022.
- [21] Wang YF, Yu DS, Liu ZM, et al. Exosomes from embryonic mesenchymal stem cells alleviate osteoarthritis through balancing synthesis and degradation of cartilage extracellular matrix [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8 (1): 189. DOI: 10.1186/s13287-017-0632-0.
- [22] Lin JH, Yu YW, Chuang YC, et al. ATF3-Expressing large-diameter sensory afferents at acute stage as bio-signatures of persistent pain associated with lumbar radiculopathy [J]. *Cells*, 2021, 10 (5): 992. DOI: 10.3390/cells10050992.
- [23] Jochmann E, Boettger MK, Anand P, et al. Antigen-induced arthritis in rats is associated with increased growth-associated protein 43-positive intraepidermal nerve fibres remote from the joint [J]. *Arthritis Res Ther*, 2015, 17: 299. DOI: 10.1186/s13075-015-0818-8.
- [24] Jaken RJ, van Gorp S, Joosten EA, et al. Neuropathy-induced spinal GAP-43 expression is not a main player in the onset of mechanical pain hypersensitivity [J]. *J Neurotrauma*, 2011, 28 (12): 2463-2473. DOI: 10.1089/neu.2011.1833.

(修回日期:2022-01-20)

(本文编辑:汪 玲)