

· 基础研究 ·

骨髓间充质干细胞对制动大鼠骨骼肌细胞 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响

石浩 张洪翠 蔡丽晓 李铁山

【摘要】 目的 观察早期注射骨髓间充质干细胞(BMSCs)对制动大鼠骨骼肌细胞 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响。**方法** 取幼龄大鼠(80~100 g)胫骨和股骨,分离培养大鼠 BMSCs。用可塑性石膏制备右下肢管型固定肌萎缩模型,根据随机数字表法将 24 只大鼠分成假手术组、干细胞组、磷酸缓冲液(PBS)组,干细胞组大鼠下肢制动 48 h 后于比目鱼肌局部多点注射 1×10^6 个 BMSCs;PBS 组大鼠下肢制动 48 h 后注射等量 PBS;假手术组大鼠下肢包裹相同重量石膏且不限制关节活动,48 h 后注射等量 PBS,14 d 后各组大鼠拆除石膏取标本分析。**结果** 培养中的大鼠 BMSCs 以梭形细胞为主,呈放射状排列的细胞集落,细胞生长旺盛,可连续稳定传代 10 代以上。实验中第 4 代 BMSCs 表面标志 CD44、CD90 均呈阳性表达,阳性率分别为 95.84%、96.00%,而 CD34、CD45 阳性率极低。与假手术组大鼠比目鱼肌中 Bax 和 Bcl-2 蛋白表达量[(0.14±0.11)、(0.81±0.06)]比较,干细胞组和 PBS 组 Bax 蛋白表达量[(0.41±0.08)、(0.63±0.10)]明显升高,两组 Bcl-2 蛋白表达量[(0.47±0.14)、(0.22±0.13)]明显降低;干细胞组中 Bax 蛋白的表达水平较 PBS 组低,Bcl-2 蛋白的表达水平显著增高,差异有明显统计学意义($P<0.05$)。**结论** 制动大鼠骨骼肌早期注射 BMSCs,可引起抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平上调、促凋亡蛋白 Bax 表达水平下调。

【关键词】 间充质干细胞; 固定; 骨骼肌; Bax; Bcl-2

Effects of mesenchymal stem cells on the expression of Bcl-2 and Bax in atrophied muscle Shi Hao*, Zhang Hongcui, Cai Lixiao, Li Tieshan. * Shandong Rehabilitation Research Center, Jinan 250100, China
Corresponding author: Li Tieshan, Email: tieshanl@126.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of mesenchymal stem cells (BMSCs) on the expression of Bcl-2 and Bax in atrophied muscles. **Methods** Immature rats (80~100 g) were anesthetized to collect marrow from their femurs and tibias. BMSCs were isolated from the marrow, cultured and purified using the whole bone marrow adherence method. Their right hindlimbs were immobilized from the thigh to the paw with the knee in extension and the ankle in plantar flexion. After the modeling, 24 of the male rats were divided into a sham-operation group, a BMSC group and a phosphate buffer solution (PBS) group, each of 8. The BMSC and PBS groups were injected with either approximately 10^6 BMSCs or an equal volume of PBS into the belly of the soleus muscle after they had been immobilized for 48 hours, while the control group did not undergo any treatment except for the injection of PBS. All of the rats were sacrificed for analysis after 14 days. **Results** The BMSCs were mainly spindle cells, showing radial colony arrangement. They grew vigorously and could passage in a continuous and stable manner over 10 passages. At the 4th passage the BMSCs were positive for CD44 (95.84%) and CD90 (96.00%), but negative for CD34 and CD45. Western blotting assay demonstrated that the expression of Bax protein as measured in grey-scale value (0.41±0.08) in the BMSC group was significantly lower than in the PBS group (0.63±0.10), but significantly higher than in the control group (0.14±0.11) on average. The expression of Bcl-2 (0.47±0.14) was also significantly higher in the BMSC group than in the PBS group (0.22±0.13), but significantly lower than in the control group (0.81±0.06). **Conclusion** Bone marrow mesenchymal stem cells can upregulate the expression of anti-apoptotic Bcl-2 protein and downregulate that of the apoptotic Bax protein when injected early into the belly of a muscle in an immobilized limb.

【Key words】 Mesenchymal stem cells; Immobilization; Skeletal muscles; Bax; Bcl-2

肢体固定是临床上一种常用的治疗手段,由此带

来的骨骼肌废用性萎缩严重影响着疾病的治疗和运动功能康复。研究表明,制动会引起肌肉生理、生化及生物力学等方面发生改变,从而导致功能下降^[1]。同时还会伴随肌细胞大量凋亡、肌重量降低、肌纤维缩短等^[2]。而抑制肌细胞凋亡能有效减缓制动所引起的肌萎缩及纤维化过程^[3]。抗凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2017.06.001

作者单位:250100 济南,山东省康复研究中心(石浩);山东省文登整骨医院康复医学科(张洪翠);临沂市兰陵县人民医院康复医学科(蔡丽晓);青岛大学医学院附属医院康复二科(李铁山)

通信作者:李铁山,Email:tieshanl@126.com

蛋白 Bax 是 B 淋巴细胞瘤-2 家族的重要成员,作用分别为抑制细胞凋亡和促进细胞凋亡,被认为是细胞凋亡的核心调控因子^[4]。研究发现,骨骼肌萎缩后,会出现大量肌细胞凋亡并伴随有凋亡易感基因 Bcl-2 和 Bax 表达的变化,提示 Bcl-2 和 Bax 蛋白参与了肌萎缩的全过程^[5]。

骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)具有多向分化潜能,能促进骨、软骨、肌肉、韧带、肌腱、脂肪等间充质组织再生^[6-8]。有研究报道,在大鼠骨骼肌缺血性损伤模型中,BMSCs 能有效减少受损肌细胞的进一步凋亡^[9]。但有关 BMSCs 对制动大鼠骨骼肌中抗凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡蛋白 Bax 表达影响的研究尚鲜见报道,仍需要深入研究。本研究利用可塑性石膏管型制作大鼠比目鱼肌萎缩模型,模拟骨骼肌废用性萎缩,在大鼠制动早期注射 BMSCs,观察其对 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响。

材料与方法

一、实验动物

选取清洁级健康雄性 Wistar 大鼠 24 只,体重 280~300 g;6~8 周龄大鼠 5 只,体重 80~100 g。所有动物均购自青岛市药检所,采取自然光照,自由进食喂养,适应 1 周后制作模型。

二、实验试剂与仪器

α -DMEM 培养基,hyclone 胎牛血清,胰蛋白酶、青霉素、链霉素购于 Sigma 公司,CD34、CD44、CD45、CD90 抗体(美国产),Bcl-2 抗体、Bax 抗体、HRP 标记羊抗兔 IgG 二抗(美国产),倒置显微镜(日本产),UVP 凝胶成像系统、流式细胞仪(美国产)。

三、BMSCs 的原代分离培养及纯化

选取 5 只 6~8 周龄大鼠(80~100 g)行 8% 水合氯醛腹腔内注射麻醉后,无菌条件下取出股骨和胫骨,剪掉股骨和胫骨的骨骺端,露出骨髓腔,用添加 100 U/mL 青霉素、链霉素的 α -DMEM 培养基冲出骨髓,反复吹打将冲出的骨髓制成单细胞悬液,1000 r/min 离心 5 min,弃上清,接种于 25 cm² 培养瓶中,置 37℃、CO₂ 饱和湿度培养箱中培养。2 d 后进行首次换液,清除非贴壁细胞,以后每 3 d 全量更换新鲜培养基。待细胞铺满培养瓶底至细胞融合成单层、密度至 80%~90% 时,用 0.25% 胰酶消化,1:3 的比例进行传代培养。

四、BMSCs 鉴定

通过流式细胞仪检测细胞表面标记,鉴定所取细胞。具体过程如下:细胞传至 4 代时,选取生长状态良好细胞,0.25% 胰酶消化,4℃ 离心,1200 r/min,5 min,用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)清

洗细胞 3 次,各管依次加入单克隆抗体 CD34、CD44、CD45、CD90。同时每管样品设立未加抗体的阴性对照。避光冰上孵 30 min,用 PBS 洗涤细胞 3 次,用 500 μ L PBS 重悬细胞,通过流式细胞仪进行检测分析。

五、动物实验分组及模型制备

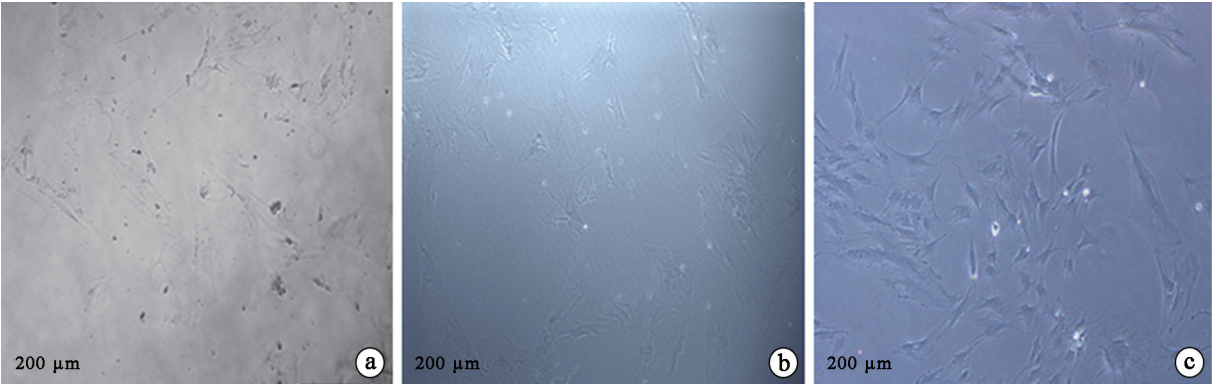
根据随机数字表法将 24 只大鼠分成假手术组、干细胞组、PBS 组。干细胞组和 PBS 组大鼠右下肢采用石膏固定法制动 14 d,假手术组不制动,下肢捆绑同重量石膏、但不限制关节活动,14 d 后各组大鼠解除右下肢石膏固定,取标本分析。模型制备过程如下:大鼠行 8% 水合氯醛腹腔内注射麻醉后,在其右侧后肢踝关节及腹股沟等血管容易受压处,衬 1 层薄厚适宜的棉垫,通过可塑性石膏绷带将大鼠右下肢固定,足趾屈 120°,膝关节伸直,使比目鱼肌处于缩短位^[10]。最后在最外层的石膏上面涂抹苦味酸,防止动物对石膏的撕咬。在制动期间,密切注意观察动物肢体的末梢血液循环及石膏固定情况,发现有水肿、溃疡或石膏松脱者立即中止该动物的实验。大鼠单笼饲养,饲养室室温保持在 20~25℃,人工控制室内照明,每昼夜均保持 12 h 光照与黑暗循环交替。

六、间充质干细胞移植

造模成功后 48 h,干细胞组及 PBS 组所有大鼠麻醉后,除去可塑性石膏。干细胞组大鼠比目鱼肌局部多点注射 BMSCs;假手术组和 PBS 组大鼠比目鱼肌注射等量磷酸缓冲液 PBS。具体操作过程如下:消化已经准备好的 4 代 BMSCs,并计数,将每 1×10^6 个 BMSCs 重悬于 50 μ L 无菌生理盐水中,于干细胞组大鼠右侧比目鱼肌肌腹多点注射 50 μ L 间充质干细胞悬液,假手术组和 PBS 组大鼠于相同位置注入等体积的 PBS 缓冲液。

七、Western blot 检测

取所需肌肉组织剪碎后移入含有蛋白酶抑制剂的裂解液中,用匀浆机打匀,离心后取上清。加 Loading Buffer 缓冲液配制样品,沸水浴 95℃、5 min,使蛋白变性得蛋白样品。经 7.5% 的聚丙烯酰胺凝胶(polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)行电泳 1.5~2 h,电压 110 V。用湿转法将蛋白从十二烷基磺酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)—PAGE 胶上转移到聚偏二氟乙烯膜(polyvinylidene fluoride, PVDF)上,转膜 2 h。转移后的 PVDF 膜浸入 5% 脱脂奶粉封闭液中,室温摇床 45 min。兔抗鼠 Bcl-2 抗体(1:1000)、Bax 抗体(1:1000)4℃ 轻微振摇过夜。用含 5% 脱脂奶粉的洗涤液洗膜 3 遍,每次 5 min,加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 抗体(1:10000),室温振荡 2 h,洗膜。经凝胶成像系统显影,通过 ImageJ V1.36 软件分析条带灰度测得实验结果。



注:a、b、c 分别为 BMSCs 在原代培养 24 h 后、首次换液后、传至第三代后图像

图 1 BMSCs 培养纯化的形态学图像

八、统计学方法

数据采用 SPSS 17.0 版软件分析处理,结果采用 ($\bar{x}\pm s$)形式表示。组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较用最小显著差异法 (least significant difference, LSD) 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

一、BMSCs 培养、扩增和鉴定

原代培养 24 h 后有少量细胞贴壁,漂浮细胞较多,大多为血细胞。2 d 后首次换液,可见散在的贴壁细胞,呈短梭形、椭圆形、三角形等。以后每隔 3 d 换液。3~7 d 后贴壁细胞增多,逐渐伸展呈多角形、长梭形,详见图 1。随着培养、换液的进行,血细胞等非贴壁细胞基本去除,细胞形成集落单位。7~12 d 细胞铺满瓶底 80%~90%。以 1:3 传代,以后 5~6 d 传代 1 次。流式细胞仪检测第 4 代 BMSCs 表面标记,CD44、CD90 表达阳性,CD34、CD45 表达近乎阴性,详见图 2。CD44 和 CD90 的阳性率分别为 95.84%、96.00%。

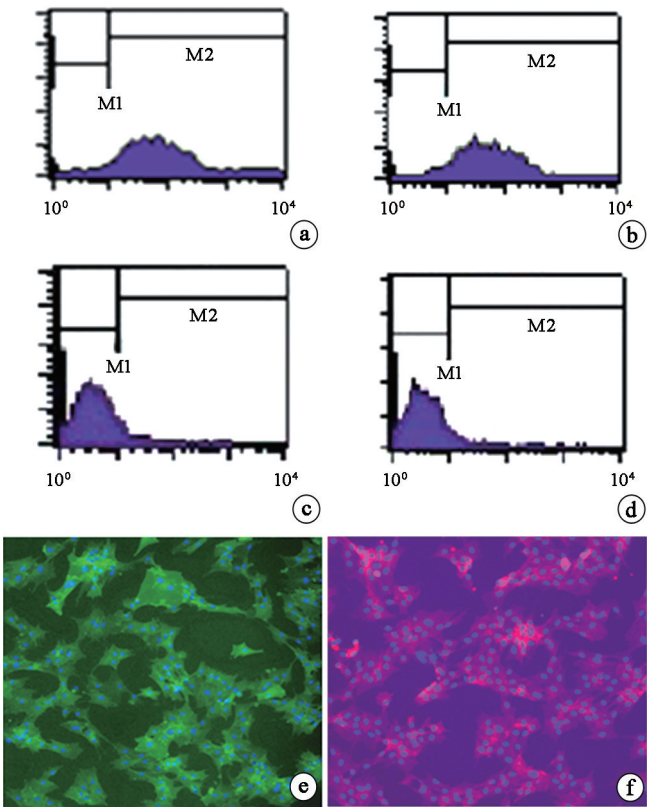
二、Western blot 法检测凋亡蛋白 Bax、抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达

各组大鼠比目鱼肌 Bax、Bcl-2 蛋白表达量详见表 1、图 3。与假手术组比较,干细胞组和 PBS 组比目鱼肌中 Bax 蛋白表达量明显升高,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。与 PBS 组比较,干细胞组中 Bax 蛋白的表达明显降低,差异有明显统计学意义 ($P<0.05$)。

表 1 各组大鼠比目鱼肌 Bax、Bcl-2 蛋白表达量与内参相对值比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	Bax/GAPDH	Bcl-2/GAPDH
假手术组	8	0.14±0.11	0.81±0.06
干细胞组	8	0.41±0.08 ^a	0.47±0.14 ^a
PBS 组	8	0.63±0.10 ^b	0.22±0.13 ^b

注:与假手术组比较, ^a $P<0.05$;与干细胞组比较, ^b $P<0.05$



注:a、b、c 和 d 分别为流式细胞仪检测 BMSCs 表面标记物 CD44PE、CD90FITC、CD34PE 和 CD45FITC 的图像;e 为 CD90FITC 标记 BMSCs 的免疫荧光图;f 为 CD44PE 标记 BMSCs 的免疫荧光图

图 2 大鼠 BMSCs 表面标志物的表达情况

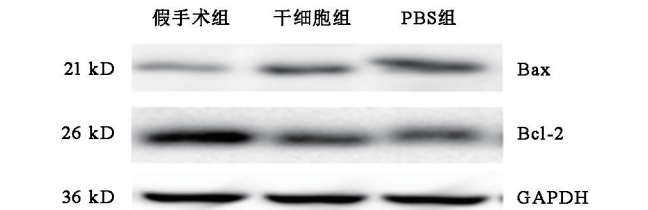


图 3 Western blot 法检测各组凋亡蛋白 Bax 及抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达

与假手术组比较,干细胞组和 PBS 组比目鱼肌中 Bcl-2 蛋白表达量明显降低,差异有统计学意义 ($P<$

0.05)。与 PBS 组比较,干细胞组比目鱼肌中 Bcl-2 蛋白表达量显著增高,差异有明显统计学意义($P < 0.05$)。

讨 论

骨骼肌具有很强的适应能力,在负重和废用的条件下,会发生肥大和萎缩等适应性改变^[11]。废用性肌萎缩常伴大量肌细胞的凋亡,这可能是导致肌肉重量和肌横截面积减小的主要因素^[12]。肌肉修复的过程实际上是肌细胞凋亡与再生之间的竞争过程。骨骼肌损伤后强调早期修复,纤维化时间越长,完全康复的可能性越小^[13]。动物实验报道,悬吊大鼠后肢 14 d 后,肌细胞核发生明显固缩及碎裂,显示肌细胞大量凋亡的发生^[14]。细胞凋亡等因素共同作用引起骨骼肌结构和功能异常,导致肌束的短缩或重量减少,是导致骨骼肌萎缩甚至纤维化的重要原因。本实验对制动大鼠早期注射 BMSCs,观察其对骨骼肌中抗凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡蛋白 Bax 表达的影响。

骨髓中除含有能分化成各种血细胞的造血干细胞外,还存在产生非造血组织的间充质干细胞,因其比较容易贴壁和形成纤维样的细胞集落,故又称为贴壁细胞。实验中我们采用间充质干细胞贴壁法,取大鼠股骨和胫骨中骨髓分离培养,培养皿中多为贴壁细胞与非贴壁杂质细胞的混合物,还含有较多血细胞。2 d 后首次换液,镜下可见较多短梭形、三角形细胞贴壁生长等。随着培养、换液的进行,多角形,长梭形贴壁细胞逐渐增多。在此过程中非贴壁的杂细胞基本被除去。我们采用流式细胞仪对大鼠 BMSCs 第 4 代的 CD34、CD45、CD44 和 CD90 等 4 个表面抗原标志进行了鉴定,结果显示培养的细胞均显示出间充质干细胞的特性,CD34 和 CD45 等造血干细胞表面标志抗原表达阴性,而 CD44 和 CD90 等间充质干细胞表面标志抗原表达阳性。而大鼠 BMSCs 已被证实 CD44、CD90 等表面标志抗原表达较多,CD45、CD34 等表面标志抗原表达较少^[15]。国内外文献已有大量报道,在一定的诱导条件下,BMSCs 具有向成骨细胞、脂肪细胞、骨骼肌、软骨细胞平滑肌、肌腱细胞、心肌细胞等中胚层细胞分化的能力^[16-17]。同时可以向外胚层的星形胶质细胞、神经元、血管内皮细胞等分化^[18]。BMSCs 跨系、甚至跨胚层横向分化的可塑性及其强大的分化潜能,使其为组织修复提供了可能性。BMSCs 还可调控某些蛋白的表达,抑制骨骼肌细胞凋亡的发生与发展,其机制可能是损伤的肌细胞通过刺激 BMSCs 分泌某些细胞活性因子,作用于肌细胞,进而调节细胞内凋亡信号通路蛋白的含量^[19],但具体机制仍待探讨。

骨骼肌细胞的凋亡主要通过以下两种途径激活:

一是死亡受体途径,已知的死亡受体 TNFR-1、Fas、DR3、DR4 和 DR5 属于肿瘤坏死因子受体超家族,胞外有一个富含半胱氨酸的结构域,胞浆区有一由同源氨基酸残基构成的结构,有蛋白水解功能,称“死亡区域”(death domain, DD);二是线粒体途径,Bcl-2 家族控制着线粒体外膜和内膜的通透性,其中 Bcl-2 和 Bax 蛋白是此通路的中心环节^[20]。而线粒体途径在骨骼肌细胞凋亡中发挥着更为重要的作用,一直是研究的重点领域之一。实验中,我们也发现 PBS 组大鼠比目鱼肌中 Bcl-2 蛋白表达水平较假手术组和干细胞组明显降低,而 Bax 蛋白的表达水平明显增加。Bax 作为凋亡上调基因促进凋亡发生,Bcl-2 作为下调基因抑制凋亡发生。腾金龙等^[21]发现间充质干细胞可有效减少脓毒症大鼠心肌细胞的凋亡、挽救濒死的心肌细胞,其机制可能是通过上调抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平,下调凋亡蛋白 Bax、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶的表达水平,进而抑制心肌细胞凋亡。张哲等^[22]在心肌梗死犬心肌内进行 BMSCs 移植,其结果显示 BMSCs 可通过 Fas、FasL 蛋白的减少,Bcl-2 蛋白的增多来调节梗死区及周围心肌细胞凋亡的数量。国内外学者对间充质干细胞防止心肌细胞凋亡方面的研究较多,但对其防止四肢骨骼肌细胞凋亡方面的研究甚少^[23-24]。

综上所述,BMSCs 可调控制动大鼠骨骼肌中 Bcl-2、Bax 蛋白的表达水平,这可能与抑制骨骼肌细胞凋亡密切相关。BMSCs 技术作为一种新兴的治疗手段,已得到国内外专家的广泛关注。从最初细胞的分离诱导培养,到如今众多的动物体内实验,BMSCs 应用于骨骼肌细胞凋亡的研究已得到了广泛重视。

参 考 文 献

- [1] Kim JW, Kwon OY, Kim MH, et al. Differentially expressed genes and morphological changes during lengthened immobilization in rat soleus muscle[J]. *Differentiation*, 2007, 75(2): 147-157.
- [2] Brooks NE, Myburgh KH. Skeletal muscle wasting with disuse atrophy is multi-dimensional: the response and interaction of myonuclei, satellite cells and signaling pathways[J]. *Front Physiol*, 2014, 5(3): 99. DOI: 10.3389/fphys.2014.00099.
- [3] Zhu S, Nagashima M, Khan MA, et al. Lack of caspase-3 attenuates immobilization-induced muscle atrophy and loss of tension generation along with mitigation of apoptosis and inflammation[J]. *Muscle Nerve*, 2013, 47(5): 711-721. DOI: 10.1002/mus.23642.
- [4] Tews DS. Apoptosis and muscle fibre loss in neuromuscular disorders[J]. *Neuromuscul Disord*, 2002, 12(7-8): 613-622.
- [5] Park SY, Lee JH, Kim HY, et al. Differential expression of apoptosis-related factors induces the age-related apoptosis of the gracilis muscle in humans[J]. *Int J Mol Med*, 2014, 33(5): 1110-1116. DOI: 10.3892/ijmm.2014.1675.
- [6] Smith JR, Pochampally R, Perry A, et al. Isolation of a highly clonoge-

- nic and multipotential subfraction of adult stem cells from bone marrow stroma[J]. *Stem Cells*, 2004, 22(5):823-831.
- [7] Da Silva Meirelles L, Caplan AI, Nardi NB. In search of the in vivo identity of mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(9):2287-2299. DOI: 10.1634/stemcells.2007-1122.
- [8] Moroni L, Fornasari PM. Human mesenchymal stem cells: a bank perspective on the isolation, characterization and potential of alternative sources for the regeneration of musculoskeletal tissues[J]. *J Cell Physiol*, 2013, 228(4):680-687. DOI: 10.1002/jcp.24223.
- [9] Ishii M, Shibata R, Numaguchi Y, et al. Enhanced angiogenesis by transplantation of mesenchymal stem cell sheet created by a novel magnetic tissue engineering method[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(10):2210-2215. DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.231100.
- [10] Khan MA, Sahani N, Neville KA, et al. Nonsurgically induced disuse muscle atrophy and neuromuscular dysfunction upregulates alpha7 acetylcholine receptors[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2014, 92(1):1-8. DOI: 10.1139/cjpp-2013-0063.
- [11] Nedergaard A, Jespersen JG, Pingel J, et al. Effects of 2 weeks lower limb immobilization and two separate rehabilitation regimens on gastrocnemius muscle protein turnover signaling and normalization genes[J]. *BMC Res Notes*, 2012, 5(3):166. DOI: 10.1186/1756-0500-5-166.
- [12] Wang XD, Kawano F, Matsuoka Y, et al. Mechanical load-dependent regulation of satellite cell and fiber size in rat soleus muscle[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 290(4):981-989.
- [13] Huard J, Li Y, Fu FH. Muscle injuries and repair: current trends in research[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2002, 84(5):822-832.
- [14] Siu PM, Pistilli EE, Alway SE. Apoptotic responses to hindlimb suspension in gastrocnemius muscles from young adult and aged rats[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2005, 289(4):1015-1026.
- [15] Lin CS, Xin ZC, Dai J, et al. Commonly used mesenchymal stem cell markers and tracking labels: Limitations and challenges[J]. *Histol Histopathol*, 2013, 9(28):1109-1116. DOI: 10.14670/HH-28.1109.
- [16] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement[J]. *Cytotherapy*, 2006, 8(4):315-317.
- [17] Williams AR, Hare JM. Mesenchymal stem cells: biology, pathophysiology, translational findings, and therapeutic implications for cardiac disease[J]. *Circ Res*, 2011, 109(8):923-940. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.111.243147.
- [18] Muñoz-Elias G, Marcus AJ, Coyne TM, et al. Adult bone marrow stromal cells in the embryonic brain: engraftment, migration, differentiation, and long-term survival[J]. *J Neurosci*, 2004, 24(19):4585-4595.
- [19] Chung L, Ng YC. Age-related alterations in expression of apoptosis regulatory proteins and heat shock proteins in rat skeletal muscle[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1762(1):103-109.
- [20] Jin Z, El-Deiry WS. Overview of cell death signaling pathways[J]. *Cancer Biol Ther*, 2005, 4(2):139-163.
- [21] 滕金龙, 李丹, 蔡尚郎, 等. 重组人促红细胞生成素联合骨髓间充质干细胞移植治疗脓毒症大鼠心肌损伤[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2014, 18(28):4530-4534. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2014.28.017.
- [22] 张哲, 杨关林, 李峥, 等. 同种异体骨髓间充质干细胞穴位移植对梗死心肌及周围区细胞凋亡及相关蛋白的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(43):8477-8480. DOI: 10.3321/j.issn:1673-8225.2008.43.009.
- [23] Guo BS, Cheung KK, Yeung SS, et al. Electrical stimulation influences satellite cell proliferation and apoptosis in unloading-induced muscle atrophy in mice[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1):e30348. DOI: 10.1371/journal.pone.0030348.
- [24] Alway SE, Bennett BT, Wilson JC, et al. Epigallocatechin-3-gallate improves plantaris muscle recovery after disuse in aged rats[J]. *Exp Gerontol*, 2014, 50(2):82-94. DOI: 10.1016/j.exger.2013.11.011.

(修回日期:2017-04-03)

(本文编辑:凌 琛)

• 外刊撷英 •

Baricitinib versus adalimumab for rheumatoid arthritis

BACKGROUND AND OBJECTIVE Rheumatoid arthritis (RA) is a systemic autoimmune disease associated with severe disability and increased mortality. Activated Janus Kinases (JAK) are known to play a pivotal role in intracellular signaling for multiple cytokines that have been implicated in the pathological processes of RA. Baricitinib is an orally available small molecule that provides a reversible inhibition of JAK1 and JAK2. This study compared the effects of baricitinib with a tumor necrosis factor alpha inhibitor, adalimumab, for the treatment of RA.

METHODS Adult patients with active RA, with inadequate response to methotrexate were randomized to receive baricitinib, 4 mg once daily, adalimumab, 40 mg subcutaneous every other week or oral placebo. For the primary endpoint, baricitinib was compared with placebo and adalimumab for the proportion of patients at week 12 with a 20% response according to the criteria of the American College of Rheumatology (ACR20 response).

RESULTS Subjects were 1,305 patients, with 488 in the placebo group, 487 in the baricitinib group and 330 in the adalimumab group. At week 12, the ACR20 responses were 70% for baricitinib and 61% for adalimumab ($P=0.01$). In addition, baricitinib was superior to adalimumab in reducing disease activity at week 12, as assessed with the Disease Activity Score for 28 Joints (DAS28) with the use of high-sensitivity c-reactive protein ($p<0.001$). A reduction in radiographic progression was observed for both treatment groups as compared to placebo at weeks 24 and 52.

CONCLUSION This study of patients with rheumatoid arthritis and inadequate response to methotrexate found that an oral dose of baricitinib resulted in significantly greater clinical improvement than placebo or adalimumab.

【摘自:Taylor PC, Keystone EC, van der Heijde D, et al. Baricitinib versus placebo or adalimumab in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*, 2017, 376(7):652-662.】