·论著·

脱细胞生物活性微载体在软骨类器官构建中的尺寸效应和性能优化

周征锐[1,2],黄成[1,2],高宇阳[2],蒋洪宇[2],钱陶[2],饶晟[2],罗德国[2],张育榕[2],汪爱媛[2],彭江[2],卓乃强[1]
(1. 西南医科大学附属医院骨与关节外科,四川 泸州 646000; 2. 中国人民解放军总医院第四医学中心骨科医学部研究所,北京 100853)

摘要 目的 评价不同尺寸脱细胞细胞外基质(dECM)微载体构建的软骨类器官(CORG)的促增殖和成软骨能力。**方法** 制备dECM微载体,验证脱细胞效果、成分保留和生物相容性。筛选2种尺寸微载体,复合大鼠骨髓间充质干细胞(BMSC)构建CORG。通过DNA定量、组织化学染色、免疫荧光染色和实时定量PCR,检测CORG的细胞增殖、成软骨分化和细胞黏附能力。**结果** 成功制备dECM微载体,脱细胞彻底且基质成分保留良好。通过粒径分析成功筛选出2种尺寸的微载体,无细胞毒性,生物相容性佳。与大尺寸dECM微载体构建的CORG(HCORG组)相比,小尺寸dECM微载体构建的CORG(SCORG组)显著促进细胞增殖,具有更规则的空间结构,其细胞外基质分泌能力、细胞间和细胞-微载体间的联系和黏附更好,软骨形成关键基因*SOX9*表达水平更高。实时定量PCR结果表明,2组均高表达成软骨基因(*SOX9*、*COLⅡ*、*ACAN*),且在第14天达峰值($P < 0.001$);SCORG组中成软骨相关基因和细胞黏附相关基因的表达水平更高($P < 0.01$)。**结论** 用小尺寸微载体构建的CORG具有更强的成软骨分化和促细胞黏附能力。

关键词 软骨缺损; 组织工程; 软骨类器官; 大鼠骨髓间充质干细胞; 细胞外基质
中图分类号 R684 **文献标志码** B **文章编号** 0258-4646(2026)05-0389-07
网络出版地址 https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20260515.1536.004
DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2026.05.002

Size-dependent effects and performance optimization of decellularized bioactive microcarriers in cartilage organoid construction

ZHOU Zhengrui[1,2], HUANG Cheng[1,2], GAO Yuyang[2], JIANG Hongyu[2], QIAN Tao[2], RAO Sheng[2], LUO Deguo[2], ZHANG Yurong[2], WANG Aiyuan[2], PENG Jiang[2], ZHUO Naiqiang[1]
(1. Department of Bone and Joint Surgery, The Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 2. Institute of Orthopaedics, The Fourth Medical Center of Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

Abstract Objective To evaluate the pro-proliferative and chondrogenic potential of cartilage organoid (CORG) constructed using decellularized extracellular matrix (dECM) microcarriers of varying sizes. **Methods** dECM microcarriers were prepared and validated for decellularization efficacy, matrix component preservation, and biocompatibility. Two sizes of microcarriers were screened and combined with rat bone marrow mesenchymal stem cell (BMSC) to construct the CORG. DNA quantification, histochemical staining, immunofluorescence staining, and real-time quantitative PCR were employed to assess cell proliferation, chondrogenic differentiation, and cell adhesion capabilities within the CORG. **Results** The dECM microcarriers were successfully prepared, achieving complete decellularization while preserving matrix component integrity. Particle size analysis facilitates the effective screening of two distinct microcarrier sizes, both of which demonstrated non-cytotoxicity and excellent biocompatibility. Compared with the CORG constructed from large-sized dECM microcarriers (HCORG group), the CORG constructed from small-sized dECM microcarriers (SCORG group) significantly enhanced cell proliferation, exhibited a more regular spatial structure, and showed superior extracellular matrix secretion, as well as improved intercellular and cell-microcarrier interactions and adhesion. Additionally, the expression of *SOX9*, a key gene in chondrogenesis, was elevated in the SCORG group. Real-time quantitative PCR results indicated that both groups exhibited high expression levels of chondrogenic genes (*SOX9*, *COLⅡ*, and *ACAN*), which peaked on day 14 ($P < 0.001$). Notably, the expression levels of both chondrogenesis- and cell adhesion-related genes were significantly higher in the SCORG group ($P < 0.01$). **Conclusion** CORG constructed with small-sized microcarriers demonstrates enhanced chondrogenic differentiation potential and stronger intercellular adhesion capacity.

Keywords cartilage defect; tissue engineering; cartilage organoid; rat bone marrow mesenchymal stem cell; extracellular matrix

基金项目: 国家重点研发计划(2024YFA1108600)
作者简介: 周征锐(1999-),男,硕士研究生.
通信作者: 卓乃强,E-mail:znq0101@163.com
收稿日期: 2025-06-30
网络出版时间: 2026-05-18 15:34:52

关节软骨因缺乏血管和神经，自我修复能力极差[1]。机械损伤或退行性变导致的软骨缺损，若不及时干预，将不可逆地进展为骨关节炎[2-3]，导致关节畸形和功能障碍[4-5]。临床现有的微骨折、自体软骨移植等疗法虽能缓解症状，但难以再生天然透明软骨，且易形成纤维软骨，长期疗效受限[6]。间充质干细胞因具有多向分化潜能，成为软骨组织工程的研究重点。相较于无法模拟三维微环境的传统二维培养，类器官技术通过体外自组装，能高度还原体内细胞与基质间的相互作用。其中，脱细胞细胞外基质（decellularized extracellular matrix，dECM）因富含生物活性成分且能诱导干细胞向软骨分化，是构建软骨类器官（cartilage organoid，CORG）的理想支架[7]。本课题组前期研究[8]利用150~300 μm的dECM微载体成功构建了CORG，但仍存在细胞分布不均、组织致密度不足等问题。由于材料的颗粒大小、孔隙率等物理特性会显著影响细胞行为，本课题组推测更小尺寸的dECM微载体能通过增加与种子细胞的接触面积，促进更紧密的结合和基质分泌。因此，本研究将大鼠骨髓间充质干细胞（bone marrow stem cell，BMSC）复合不同尺寸的dECM微载体，对比尺寸效应，以探索更优化的CORG构建策略。

1　材料与方法

1.1　材料

大鼠BMSC，购自美国Cyagen公司；大鼠BMSC成软骨诱导培养基、阿利辛蓝染色液、番红O染色液，购自原启生物科技（上海）有限责任公司；超低黏附96孔U型板，购自美国Corning公司；苏木素-伊红（hematoxylin eosin，HE）染色液、CCK-8试剂盒，购自北京索莱宝科技有限公司；兔来源SOX9一抗，购自美国abcam公司；Calcein-AM/PI细胞活性和细胞毒性检测试剂盒，购自北京碧云天科技有限公司；RNA提取试剂盒、反转录试剂盒、实时定量PCR试剂盒，购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司；DNA提取试剂盒，购自德国QIAGEN公司；体视显微镜，购自日本Nikon公司；实时荧光定量PCR仪，购自美国ThermoFisher Scientific公司；全景共聚焦数字切片扫描仪，购自上海达迈生物科技有限公司。

1.2　方法

1.2.1　dECM微载体制备：从市场购买新鲜猪膝关节，无菌采集其透明软骨，切成3 mm × 3 mm × 1 mm小块，通过-80 ℃/4 ℃冻融循环和1%十二烷基硫酸钠振荡72 h进行脱细胞处理，随后用PBS清洗72 h以去除残留。将脱细胞软骨片用组织研磨仪粉碎并过筛，收集粒径分别为150~300 μm和50~80 μm的dECM微载体，经^{60}Co辐照灭菌后，于4 ℃冰箱保存。

1.2.2　脱细胞前后的DNA定量、细胞外基质成分分析和微载体粒径分析：分别取脱细胞前后的软骨片20 mg，分为天然软骨组（Natural组）和脱细胞组（Decellularization组），经液氮研磨和蛋白酶K消化后，采用DNA提取试剂盒提取总DNA。采用酶标仪测定520 nm处的吸光度，计算浓度，以评价脱细胞效率。制备10 μm冰冻切片，采用DAPI染色观察细胞核残留情况；采用HE染色观察组织形态；采用甲苯胺蓝和番红O染色评价细胞外基质中蛋白多糖等成分的保留情况。采用300、150、80和50 μm规格的筛网过筛，制备大尺寸微载体（150~300 μm）和小尺寸微载体（50~80 μm）。将微载体悬浮于PBS中，制备玻片。光学显微镜下随机选取10个视野，使用ImageJ软件测量至少100个颗粒的等效直径，计算颗粒的平均直径、分布范围和标准偏差。

1.2.3　dECM微载体的细胞毒性和生物相容性检测：将^{60}Co灭菌后的微载体按0.2 g/mL质量浓度浸泡于MEM-α完全培养基中，37 ℃提取24 h，收集浸提液。将P3代大鼠BMSC以8×10^3/孔的密度接种于96孔板，贴壁24 h后，浸提液组（Extract组）更换为微载体浸提液，对照组（Control组）使用常规培养基。分别于培养第1、3、5天加入CCK-8试剂，孵育1 h后，应用酶标仪检测450 nm处的吸光度值，评价微载体的细胞毒性及其对细胞增殖的影响。应用Calcein-AM/PI试剂盒评估微载体对细胞活性的影响，将P3代大鼠BMSC以2×10^4/孔的密度接种于含爬片的24孔板，贴壁后更换为浸提液。分别于第1、3、5天，按1 ∶ 1 ∶ 1 000比例配制Calcein-AM/PI工作液，室温避光孵育20 min。荧光显微镜下观察并拍摄活细胞（绿色）和死细胞（红色）的分布情况，以评价其生物相容性。

1.2.4　2种尺寸的dECM微载体构建CORG：分别用小尺寸dECM微载体（SCORG组）和大尺寸dECM微载体（HCORG组）构建CORG。将大鼠BMSC原代细胞传代至P3代，进行细胞实验。将P3代大鼠BMSC

（5×10^5/孔）按10 mg微载体/孔的比例，接种于低黏附U型96孔板（200 μL/孔）。首先使用MEM-α完全培养基预培养3 d，促使细胞与微载体自组装成CORG，随后更换为OriCell成软骨诱导培养基诱导21 d。诱导期间，每2 d更换一半（100 μL）培养液，并分别于第0、7、14 和21天取材检测。

1.2.5　软骨形成基因和细胞黏附相关基因检测：分别收集第0、7、14和21天SCORG组和HCORG组的CORG样品，按说明书提取总RNA，反转录为cDNA。采用实时定量PCR检测成软骨基因（*SOX9*、*COLⅡ*、*ACAN*）和细胞黏附基因（*ITGB1*、*ITGA5*）的表达水平。扩增程序：95 ℃预变性30 s；95 ℃ 10 s，58 ℃ 30 s，72℃ 45 s，40个循环。以*GAPDH*为内参基因，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算基因的相对表达量。

引物序列：*SOX9*，正向5’-GCGGAGGAAGTCGGTGAAGAT-3’，反向5’- GTAGACGGGTTGTTCCCAGT-3’；*ACAN*，正向5’-CTAGTGGACTCCCTTCAGGAAC-3’，反向5’-CGCTAAGCTCAGTCACTCCAG-3’；*COLⅡ*，正向5’-CCAGATGACCTTCCTACGCC-3’，反向5’-TTCAGGGCAGTGTACGTGAAC-3’；*ITGB1*，正向5’-CAGCCGCTTCACCTACAGC-3’，反向5’-TTTTGTATTCAATCACTGTCTTGCC-3’；*ITGA5*，正向5’-CTCACAGCTGGCAGGGTATC-3’，反向5’-TTAGAGACTGCATGTTAGTTCTGGA-3’；*GAPDH*，正向5’-GGTCGGTGTGAACGGATTTG-3’，反向5’-ATGAGCCCTTCCACAATG-3’。

1.2.6　2种尺寸微载体构建的CORG的大体观和促细胞增殖能力检测：收集SCORG组和HCORG组中诱导14 d的CORG，PBS清洗后，体视显微镜下观察其大体观。第14天时，将2组CORG按1.2.2的方法提取DNA，应用酶标仪检测520 nm处的吸光度值，通过标准曲线计算DNA含量，以评价CORG内细胞增殖水平。

1.2.7　2种尺寸微载体构建的CORG的组织化学染色：收集SCORG组和HCORG组中诱导14 d的CORG，经4%多聚甲醛固定24 h和30%蔗糖脱水后，用OCT包埋，制备10 μm冰冻切片。进行HE、阿利辛蓝染色和番红O染色，以评价酸性蛋白聚糖的分泌。切片经梯度脱水、透明和封片处理后，显微镜下观察CORG的组织形态和基质分布。

1.2.8　2种尺寸微载体构建的CORG的免疫荧光染色：收集SCORG组和HCORG组中诱导14 d的CORG，经4%多聚甲醛固定24 h和30%蔗糖脱水后，用OCT包埋，制备10 μm冰冻切片。切片经0.5% Triton X-100通透和抗原修复后，用5%牛血清白蛋白封闭1 h。随后滴加SOX9一抗（1 ∶ 200），4 ℃孵育16 h。次日滴加荧光二抗，避光孵育2 h，用DAPI复染细胞核。经抗荧光淬灭封片后，荧光显微镜下观察目的蛋白的表达和分布。

1.3　统计学分析

采用GraphPad Prism 10.0软件进行统计分析和图表绘制。所有实验均独立重复至少3次，取均值进行统计分析。所有数据通过正态性检验，计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，组间比较采用独立样本t检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　软骨片脱细胞效果验证和尺寸筛选

脱细胞前，Natural组中可见大量蓝色荧光标记的细胞核结构；脱细胞处理后，Decellularization组软骨基质中未见明显细胞核残留，表明细胞成分已被完全清除（图1A）。DNA定量检测结果显示，Natural组和Decellularization组DNA含量分别为（22.584 ± 0.819）和（1.606 ± 0.178）ng/mL，Decellularization组软骨片中DNA含量显著降低（$P<0.001$）。HE、甲苯胺蓝和番红O染色结果（图1B~1D）进一步表明，Decellularization组软骨片细胞外基质成分保留完整，细胞核被彻底去除。粒径分选的结果（图1E）显示，大尺寸和小尺寸微载体的平均直径分别为（217.70 ± 57.23）μm和（68.46 ± 10.73）μm，成功筛选出具有显著尺寸梯度的2组dECM微载体。

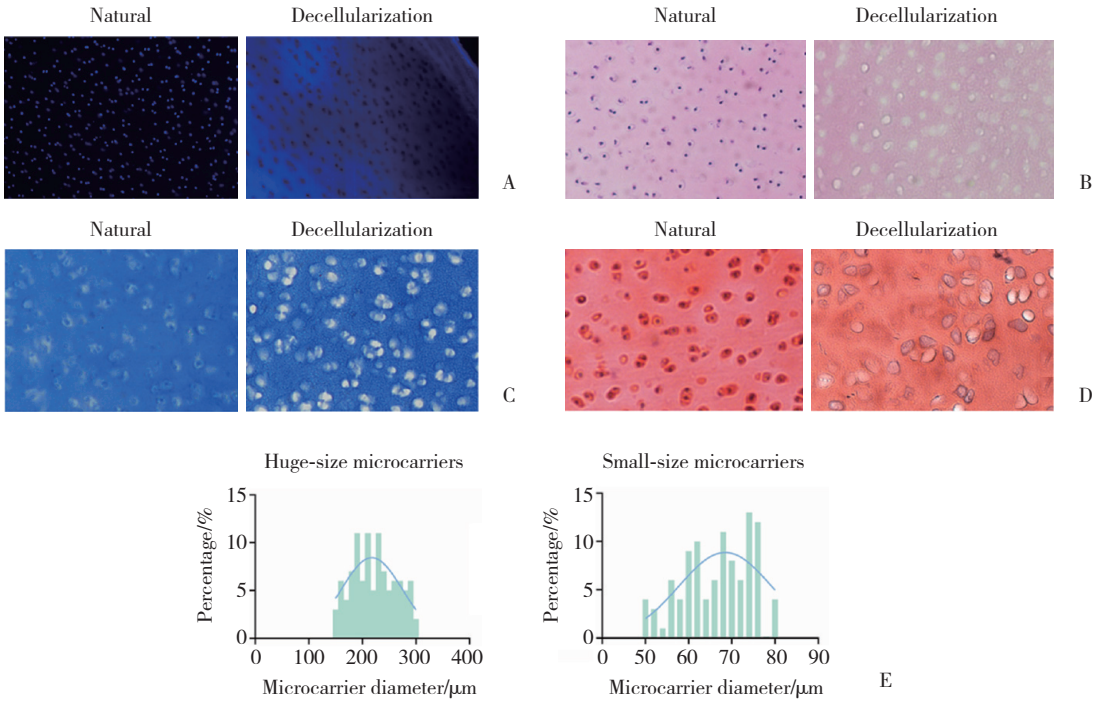
2.2　dECM微载体的细胞毒性和生物相容性实验

CCK-8结果（图2A）显示，Extract组第1、3、5天时的细胞活性呈持续上升趋势，证实微载体无明显细胞毒性。活/死细胞染色结果（图2B）显示，与浸提液共培养的大鼠BMSC铺展良好，在第1、3、5天均观察到大量活细胞（绿色），死细胞极少（红色），细胞密度随时间推移显著增加，进一步验证了微载体优异的生物相容性。

2.3　2组CORG的基因表达情况

SCORG组和HCORG组中CORG在7、14、21d这3个时间点均表现出软骨相关基因高表达，*SOX9*、*COLⅡ*、*ACAN*在14 d时表达量最高（$P<0.001$），且SCORG组

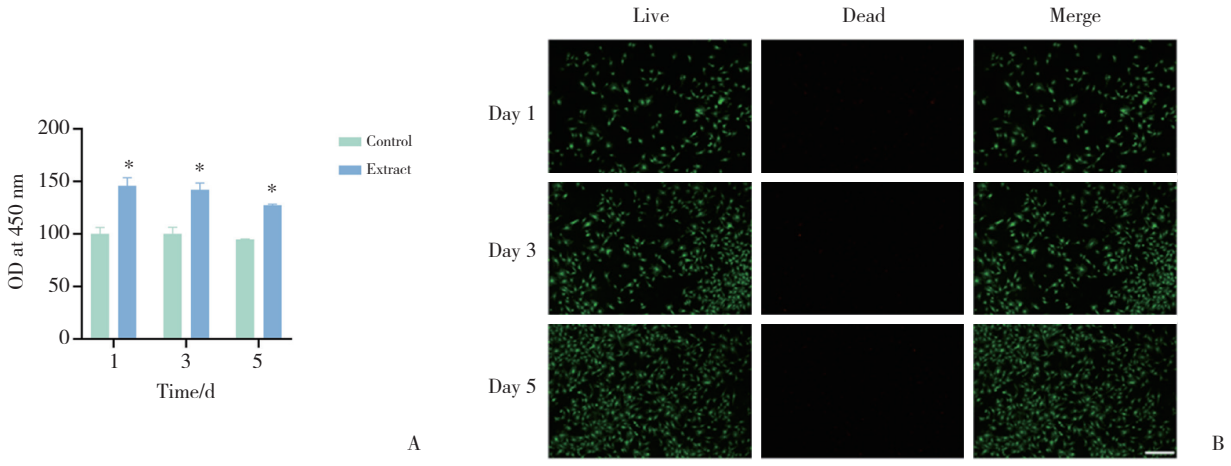
高于HCORG组（$P < 0.01$）。与此类似，SCORG组中细胞黏附相关基因*ITGB1*、*ITGA5*的表达量也显著高于HCORG组（$P < 0.01$），于14 d时达到峰值，成功筛选出14 d为CORG最佳诱导时间点。见图3。



A，DAPI staining（×20）；B，HE staining（×20）；C，toluidine blue staining（×20）；D，safranin O staining（×20）；E，particle size distribution analysis of decellularized extracellular matrix microcarriers.

图1　猪软骨脱细胞的效果验证和粒径筛选

Fig.1　Validation of porcine cartilage decellularization and particle size screening



A，cytotoxicity evaluation of decellularized extracellular matrix microcarrier extracts；B，live/dead cell staining of BMSCs treated with decellularized extracellular matrix microcarrier extracts（×4）. * $P < 0.01$ vs. control group.

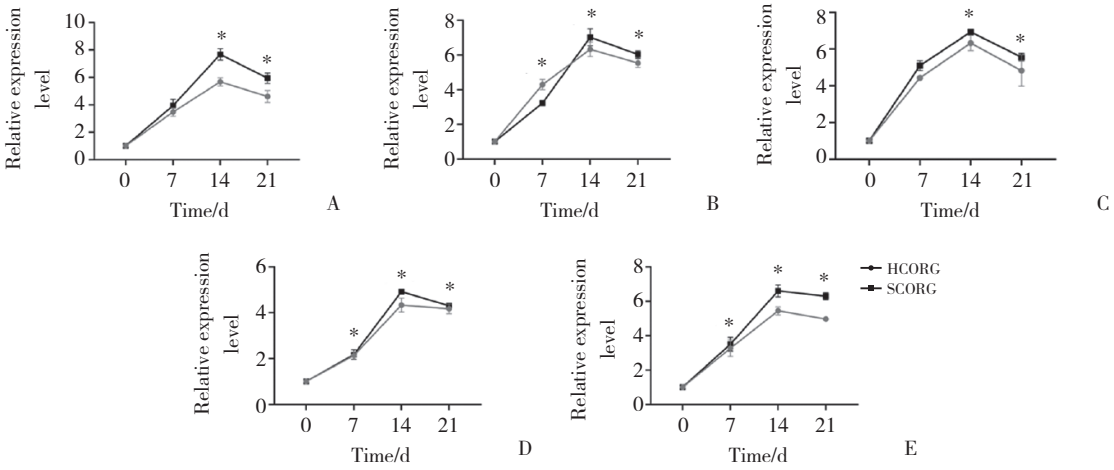
图2　dECM浸提液处理BMSC后的CCK-8实验和活/死细胞染色

Fig.2　CCK-8 assay and live/dead cell staining of BMSCs after treatment with dECM extract

2.4　2组CORG肉眼观察、促增殖能力和组织化学染色

肉眼观察显示（图4A），SCORG组中CORG表面圆润平滑，形态规则；而HCORG组中CORG形状不规则，边缘凸起。DNA定量结果（图4B）证实，培养14 d后SCORG组的DNA含量显著高于HCORG组，表明小尺寸dECM微载体具有更强的促细胞增殖能力（$P < 0.01$）。荧光强度定量分析结果（图4C）显示，SCORG组*SOX9* mRNA平均表达水平显著高于HCORG组（$P <$

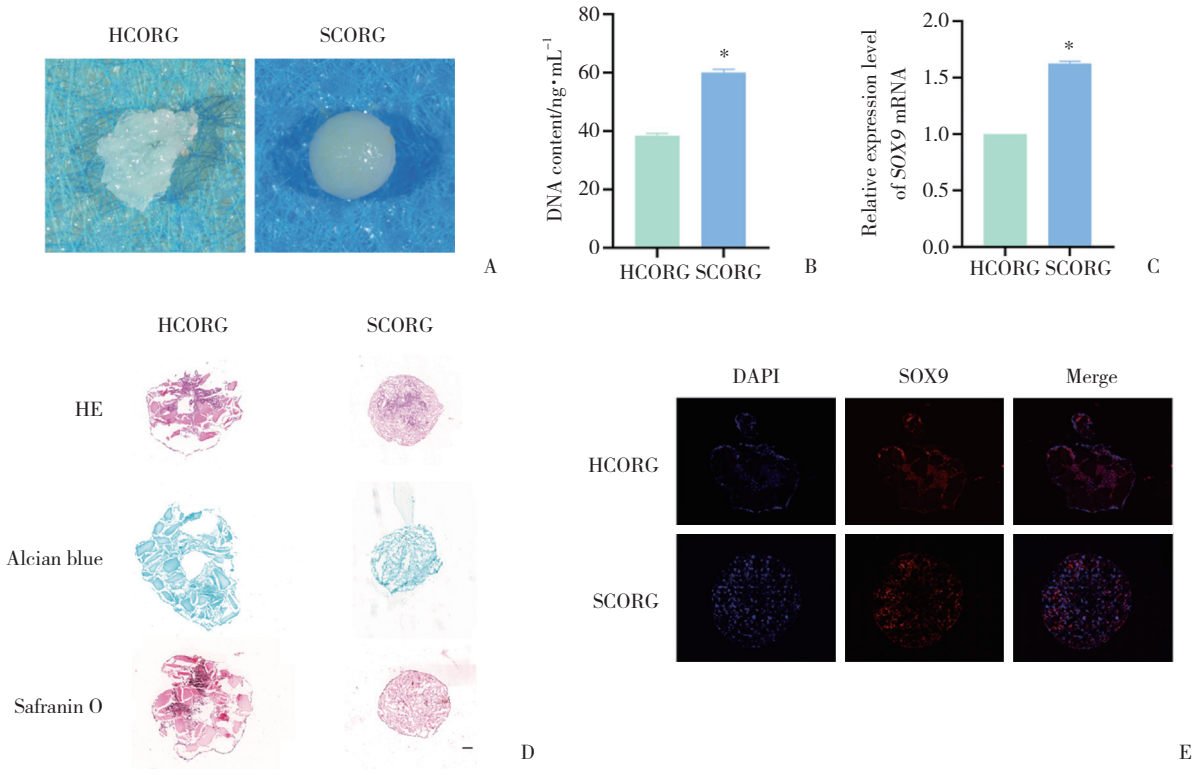
0.01)，表明小尺寸dECM微载体能更有效地诱导BMSC向成软骨方向分化。HE染色结果(图4D)显示，SCORG组边界清晰、圆度高，细胞在微载体间分布均匀有序，形成了紧密的细胞–基质整合结构；HCORG组细胞分布不均，呈聚集现象，内部可见明显中空。阿利辛蓝和番红O染色结果(图4D)进一步证实，SCORG组在整个球体范围内均有丰富的蛋白多糖和黏多糖分泌，构成了良好的生理性仿生网络；而HCORG组基质分泌量较少，且缺乏空间联系。免疫荧光染色结果(图4E)显示，成软骨关键因子SOX9在SCORG组中呈全球体广泛阳性表达，且与微载体高度整合；HCORG组中SOX9信号主要局限于球体表面。



A，*SOX9* mRNA；B，*ACAN* mRNA；C，*COL Ⅱ* mRNA；D，*ITGB1* mRNA；E，*ITGA5* mRNA. * $P < 0.01$ vs. HCORG group.

图3　2组CORG的软骨形成和细胞黏附相关基因表达的比较

Fig.3　Comparison of chondrogenesis- and cell adhesion-related gene expression between the two groups



A，macroscopic appearance of CORG (×10)；B，DNA quantification of CORG；C，quantitative analysis of *SOX9* mRNA expression；D，HE，alcian blue，and safranin O staining (×4)；E，immunofluorescence staining of SOX9 (×4). * $P < 0.01$ vs. HCORG group.

图4　2组CORG的大体观、DNA定量和组织化学染色评估

Fig.4　Gross observation，DNA quantification，and histological staining of CORG in the two groups

3　讨论

本研究通过制备生物活性优异的dECM微载体，通过粒径分析筛选出大、小2种尺寸的dECM微载体，复合BMSC，分别构建出HCORG组和SCORG组2种CORG。通过对比发现，SCORG组中CORG显著促进细胞增殖，具有更佳的软骨基质分泌能力和细胞间黏附能力，为CORG的构建方式提供了新思路。

关节软骨的自我修复能力有限。微骨折、软骨移植和软骨细胞移植等传统疗法虽能短期缓解症状，但往往因修复产物为纤维软骨（非透明软骨）而导致远期疗效不佳[9]，且面临免疫排斥、手术成本高等问题[10]。CORG能模拟三维仿生微环境，是理想的修复移植物。针对单纯细胞组装易出现的内部空心化的问题，引入生物活性材料提供支撑至关重要[11]。与存在降解周期长、细胞亲和性不足等问题的合成材料比较，dECM具备天然的生物降解性、相容性和低免疫原性，是构建CORG的理想支架。

本研究利用物理化学法成功制备猪软骨dECM微载体。DNA定量和DAPI染色证实脱细胞彻底，组织化学染色显示基质成分保留良好。CCK-8和活/死细胞染色实验进一步验证了其无毒性且能显著促进细胞增殖。鉴于dECM来源广泛、成本低且已具备临床应用基础，基于dECM构建的CORG展现出显著的临床转化潜力[12]。基于制备工艺的可行性，本研究将规格为（68.46 ± 10.73）μm的dECM定义为小尺寸dECM微载体，将规格为（217.70 ± 57.23）μm的dECM定义为大尺寸dECM微载体。

ECM的分泌水平直接决定软骨的抗压和支撑性能。实时定量PCR 结果显示，*SOX9*、*COLⅡ*和*ACAN*等成软骨特异性基因在诱导14 d时达到峰值，随后下降，故确定14 d为CORG的最佳培养周期。组织学也进一步证实了CORG中细胞周围大量分泌软骨细胞外基质，这都与之前的研究[13]结果一致。用2种尺寸的微载体构建CORG后，经实验证实，与HCORG组相比，SCORG组展现出更强的生物学性能。DNA定量结果显示，SCORG组细胞密度明显更高，成软骨特异性蛋白（SOX9）和基质成分（蛋白多糖、胶原）分泌更丰富，形态更趋于规则、圆润。这表明缩小微载体尺寸能显著提升dECM对BMSC向软骨分化的诱导效率。

天然软骨的力学强度依赖于细胞与基质间紧密的黏附网络。本研究中，SCORG组中黏附相关基因*ITGB1*和*ITGA5*的表达显著上调，表明小尺寸dECM微载体通过增加接触面积，增强了细胞–细胞和细胞–微载体间的通信。这种紧密的连接不仅对抗了收缩张力，还促进了机械信号转导，形成了类似天然软骨的致密三维结构。因此推测，SCORG组可能通过激活上游转录因子（如TWIST、SP1）[14-15]，进而通过整合素α5β1介导FAK-Src或Rho GTPases等通路实现骨架重排和分化增强，其深层机制仍需进一步探究。

尽管已经成功构建了基于小尺寸dECM微载体的新型CORG（SCORG组），但仍需进一步开展体内移植实验，以评估其在原位软骨缺损中的修复效能。此外，微载体与细胞间相互作用的深层分子机制仍有待挖掘。

综上所述，本研究表明，与HCORG组相比，SCORG组在促进成软骨分化方面效能更优。SCORG组构建的疏松多孔网络和致密三维环境，在优化营养交换的同时，高度还原了天然软骨的力学和空间特性。小尺寸dECM微载体为CORG的构建提供了更优化的策略，不仅有望推动软骨再生技术的临床转化，也为高仿生体外药物筛选平台的建立奠定了基础。

参考文献：

[1] YOU B，ZHOU C，YANG Y. MSC-EVs alleviate osteoarthritis by regulating microenvironmental cells in the articular cavity and maintaining cartilage matrix homeostasis [J]. Ageing Res Rev，2023，85：101864. DOI：10.1016/j.arr.2023.101864.

[2] 易新，周青，李波. 软骨下骨在骨关节炎中的病理改变及其机制[J]. 中国医科大学学报，2018，47（3）：275-277. DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2018.03.019.

[3] 胡建华，郑欢欢，郭文炜，等. 姜黄素通过p53信号通路抑制铁死亡减轻骨关节炎的作用机制[J]. 中国医科大学学报，2025，54（9）：832-837. DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2025.09.012.

[4] DONG X，LI C，ZHANG M，et al. Multifunctional injectable hydrogel for effective promotion of cartilage regeneration and protection against osteoarthritis：combined chondroinductive，antioxidative and anti-inflammatory strategy [J]. Sci Technol Adv Mater，2022，23（1）：361-375. DOI：10.1080/14686996.2022.2076568.

[5] 涂仕娟，杨红亚，李桃，等. 吴茱萸碱调节Shh/Gli1信号通路对膝骨关节炎大鼠软骨损伤的影响[J]. 中国医科大学学报，2024，53（9）：827-833. DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2024.09.011.

[6] WEBER J，KOCH M，ANGELE P，et al. The role of meniscal repair for prevention of early onset of osteoarthritis [J]. J Exp Orthop，2018，

5(1):10. DOI:10.1186/s40634-018-0122-z.
[7] ZHANG H,WU S,CHEN W,et al. Bone/cartilage targeted hydrogel: strategies and applications [J]. Bioact Mater,2022,23:156-169. DOI:10.1016/j.bioactmat.2022.10.028.
[8] LIU W,JIANG H,CHEN J,et al. High paracrine activity of hADSCs cartilage microtissues inhibits extracellular matrix degradation and promotes cartilage regeneration [J]. Mater Today Bio,2024,30:101372. DOI:10.1016/j.mtbio.2024.101372.
[9] LIU Y,SHAH K,LUO J. Strategies for articular cartilage repair and regeneration [J]. Front Bioeng Biotechnol,2021,9:770655. DOI:10.3389/fbioe.2021.770655.
[10] KWON H,BROWN WE,LEE CA,et al. Surgical and tissue engineering strategies for articular cartilage and meniscus repair [J]. Nat Rev Rheumatol,2019,15(9):550-570. DOI:10.1038/s41584-019-0255-1.
[11] 李雪雯,刘尧,李波. 生物支架材料在骨组织工程中的应用 [J]. 中国医科大学学报,2019,48(11):1024-1028. DOI:10.12007/j.issn.0258-4646.2019.11.015.
[12] KIM S,MIN S,CHOI YS,et al. Tissue extracellular matrix hydrogels as alternatives to Matrigel for culturing gastrointestinal organoids [J]. Nat Commun,2022,13:1692. DOI:10.1038/s41467-022-29279-4.
[13] JIANG H,LIU W,CHEN J,et al. Construction of cartilaginous organoids based on cartilage extracellular matrix microcarriers to promote articular cartilage regeneration through immune regulation [J]. J Orthop Translat,2025,53:82-98. DOI:10.1016/j.jot.2025.05.005.
[14] HWANG HS,LEE MH,KIM HA. Fibronectin fragment inhibits xylosyltransferase-1 expression by regulating Sp1/Sp3-dependent transcription in articular chondrocytes [J]. Osteoarthritis Cartilage,2019,27(5):833-843. DOI:10.1016/j.joca.2019.01.006.
[15] SONONGBUA J,SIRITUNGYONG S,THONGCHOT S,et al. Periostin induces epithelial-to-mesenchymal transition via the integrin α5β1/TWIST-2 axis in cholangiocarcinoma [J]. Oncol Rep,2020,43(4):1147-1158. DOI:10.3892/or.2020.7485.

（编辑　陈　姜）

（上接第388页）

(7 Spec No.):SP226-SP227. DOI:10.37765/ajmc.2020.88475.
[29] NARITA Y,NAGANE M,MISHIMA K,et al. Phase I/II study of tirabrutinib,a second-generation Bruton's tyrosine kinase inhibitor,in relapsed/refractory primary central nervous system lymphoma [J]. Neuro Oncol,2021,23(1):122-133. DOI:10.1093/neuonc/noaa145.
[30] YONEZAWA H,NARITA Y,NAGANE M,et al. Three-year follow-up analysis of phase 1/2 study on tirabrutinib in patients with relapsed or refractory primary central nervous system lymphoma [J]. Neurooncol Adv,2024,6(1):vdae037. DOI:10.1093/noajnl/vdae037.
[31] KAWASAKI A,MATSUMOTO I,IZUTSU K,et al. Post-marketing surveillance of tirabrutinib in 189 patients with r/r primary central nervous system lymphoma [J]. Future Oncol,2025,21(15):1837-1847. DOI:10.1080/14796694.2025.2507561.
[32] SONG J,LIU H,JIAO ZJ,et al. Zanubrutinib,lenalidomide,rituximab,temozolomide and methotrexate (RLZT ± MTX) as first-line treatment for newly diagnosed PCNSL:a prospective,open-lable,multicenter clinical trial [J]. Blood,2022,140 (Supplement 1):3739-3740. DOI:10.1182/blood-2022-164677.
[33] XIA ZZ,XU QF,CHENG S,et al. Zanubrutinib,rituximab,and high-dose methotrexate as first-line treatment in newly diagnosed primary central nervous system lymphoma (zana):a prospective,single-arm study [J]. Blood,2025,146:60. DOI:10.1182/blood-2025-60.
[34] BIAN RJ,WANG JG,PEI YM,et al. Real-world study of rituximab,methotrexate,and zanubrutinib (R-MZ) in the treatment of newly diagnosed primary central nervous system lymphoma [J]. Blood,2025,146 (Supplement 1):3699. DOI:10.1182/blood-2025-3699.
[35] XIAO XB,WENG YQ,JIANG HW,et al. Orelabrutinib combined with rituximab and high-dose methotrexate as induction therapy in newly diagnosed primary central nervous system lymphoma [J]. Invest New Drugs,2025,43(3):679-686. DOI:10.1007/s10637-025-01548-1.
[36] SHENG LX,LIU HL,ZHANG XH,et al. Prospective phase Ⅱ trial of first-line rituximab,methotrexate,and orelabrutinib (R-MO) in primary central nervous system lymphoma [J]. Blood Cancer J,2025,15(1):81. DOI:10.1038/s41408-025-01278-w.
[37] QIAO LJ,LIU QX,HUANG CZ. Orelabrutinib versus ibrutinib for patients with refractory/relapsed primary central nervous system lymphoma:an efficacy and safety analysis [J]. Medicine,2023,102(27):e33880. DOI:10.1097/MD.0000000000033880.
[38] ALLISON E,CAMPBELL A,WATSON AM,et al. Acalabrutinib may offer a new therapeutic approach for consolidation and maintenance of primary CNS lymphoma with expression of MYD88 and CD79B gene variants:a case report and literature review of primary CNS lymphoma in the BTKi era [J]. Int J Mol Sci,2025,26(21):10521. DOI:10.3390/ijms262110521.
[39] NIZAMUDDIN IA,EPPERLA N,MALACEK MK,et al. Phase Ⅰ results of acalabrutinib in combination with durvalumab in primary central nervous system lymphoma:safety,efficacy,and central nervous system penetration [J]. Blood,2024,144:985. DOI:10.1182/blood-2024-204521.
[40] GOMEZ EB,EBATA K,RANDERIA HS,et al. Preclinical characterization of pirtobrutinib,a highly selective,noncovalent (reversible) BTK inhibitor [J]. Blood,2023,142(1):62-72. DOI:10.1182/blood.2022018674.

（编辑　于　溪）