

网络出版时间: 2023-03-28 15:09:57 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20230328.1031.007.html>

ASIC1 基因敲除对佐剂性关节炎小鼠关节软骨损伤的影响

代贝贝¹, 祖胜芹², 周仁鹏², 陈飞虎²

摘要 目的 利用 ASIC1 基因敲除小鼠构建佐剂性关节炎(AA)模型,探讨敲除 ASIC1 对关节炎发病程度及关节软骨损伤的影响。方法 将野生型小鼠和基因敲除小鼠分别分为:正常组、模型组。通过观察足爪炎症情况进行关节炎评分,并测定继发侧足爪肿胀度;通过 HE 染色、免疫组化、TUNEL 法、ELISA 法检测关节软骨损伤及关节炎炎症情况。结果 基因敲除小鼠模型组的关节炎评分及足爪肿胀度低于野生型小鼠模型组;HE 结果显示敲除 ASIC1 可减轻 AA 小鼠关节软骨的破坏情况;免疫组化结果显示敲除 ASIC1 可提高 AA 小鼠关节软骨中 II 型胶原的表达;TUNEL 法结果显示基因敲除小鼠模型组中软骨细胞的凋亡水平低于野生型小鼠模型组;ELISA 法结果表明,敲除 ASIC1 可下调 AA 小鼠血清中高表达的促炎细胞因子 IL-1 β 、TNF- α 的水平。结论 敲除 ASIC1 可降低佐剂性关节炎发病程度及关节软骨的破坏水平。

关键词 ASIC1; 佐剂性关节炎; 关节软骨; 类风湿性关节炎中图分类号 R-332

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)04-0567-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.04.008

2023-02-13 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81672127)

作者单位: ¹ 安徽医科大学第一附属医院药剂科, 国家中医药管理局

中药化学三级实验室, 合肥 230022

² 安徽医科大学药学院, 合肥 230032

作者简介: 代贝贝, 女, 硕士研究生;

陈飞虎, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: cffchina@sohu.com

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种系统性自身免疫性疾病,主要病理特点为滑膜增生、炎性细胞浸润、血管翳的形成,进而引起关节软骨、周围韧带及骨组织的破坏^[1]。酸敏感离子通道(acid-sensing ion channels, ASICs)是一类由胞外酸化所激活的阳离子通道,属于上皮钠通道 ENaC/退化因子基因 DEG 通道家族成员之一,目前为止已克隆出了由 4 个基因编码的 7 个 ASICs 亚基^[2],它广泛地存在于中枢和外周感觉神经系统。据文献^[3]报道,RA 患者的关节滑液中的 pH 值最低可降至 5.5,酸性的环境对关节软骨的代谢和损伤具有重要影响。课题组前期研究^[4]表明,在佐剂性关节炎(adjutant arthritis, AA)大鼠关节软骨中 ASIC1a 表达增强,抑制 ASIC1a 的表达能明显升高软骨细胞外基质成分 II 型胶原和蛋白多糖表达量。

为进一步探讨 ASICs 在关节炎发生发展中的作用,该研究利用基因敲除小鼠建立 AA 动物模型,观察体内敲除 ASIC1 对关节炎发病程度及关节软骨破坏的影响,增加对 ASICs 的认识。

1 材料与方法

1.1 动物 ASIC1 基因敲除小鼠购自上海吉凯基因化学技术有限公司,利用 CRISPR (clusters of regularly interspaced short palindromic repeats) / Cas9 技术获得,许可证号: SCXK (沪) 011-0031,无特定病原

L914F group)。Subsequently part of vascular endothelial cells of VM was exposed to 1 000 ng/ml SIR for 48 h (TIE2-L914F + SIR group), and the proliferation and apoptosis of vascular endothelial cells of VM were detected by MTT and flow cytometry. The mRNA and protein expressions of CXCL1 and CXCR2 were detected by qRT-PCR and Western blot. **Results** Compared with the cells in TIE2-L914F group, the proliferation activity of the cells in TIE2-L914F + SIR group was inhibited, and the apoptosis rate increased ($P < 0.05$). The expression of CXCL1 increased in TIE2-L914F cells but decreased after SIR treatment ($P < 0.05$). Compared with TIE2-L914F + pcDNA3.1 group, the cell proliferation activity increased but apoptosis rate decreased in TIE2-L914F + pcDNA-CXCL1 group. Compared with TIE2-L914F + pcDNA-CXCL1 group, cell proliferation activity was inhibited but apoptosis rate increased in TIE2-L914F + pcDNA-CXCL1 + SIR Group ($P < 0.05$). In addition, compared with TIE2-L914F group, CXCR2 expression decreased in TIE2-L914F + SIR group ($P < 0.05$). **Conclusion** SIR inhibits VM cell proliferation, induces cell apoptosis of vascular endothelial cells of VM, and inhibits the expression of CXCL1/CXCR2.

Key words sirolimus; CXCL1/CXCR2; venous malformation; proliferation; apoptosis

体(SPF级)。小鼠品系为C57BL/6J,基因型为杂合子($ASIC1^{+/-}$)。在安徽医科大学实验动物中心进行饲养与繁殖,饲养环境为SPF级,湿度控制在50%~70%,温度在20~26℃。将7~9周龄雄性小鼠分离并进行基因型鉴定^[5],挑选出野生型($ASIC1^{+/+}$)、基因纯合子($ASIC1^{-/-}$)小鼠进行实验。动物实验方案由安徽医科大学动物资源中心根据国家卫生研究院《实验动物护理与使用指南》审批。

1.2 主要试剂 弗氏完全佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA), 5 mg/ml, 购自美国Sigma公司; 脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记(terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick end labeling, TUNEL)法检测试剂盒购自美国Roche公司; 小鼠白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 酶联免疫吸附检测(enzyme-linked immuno-absorbent assay, ELISA)试剂盒购自武汉Elab Science公司; 二型胶原一抗购自武汉博士德公司; $ASIC1$ 一抗购自北京博奥森公司; 免疫组织化学试剂盒、二抗购自北京中杉金桥生物公司; 其它所用试剂均为国产AR级。

1.3 主要仪器 足趾容积测量仪(型号: YLS-TA)购自山东省医学科学院设备站产品; 切片机(型号: NOVA)购自瑞典LKB公司; 荧光倒置显微镜(型号: BX-51)购自日本OLYMPUS公司; 全波长酶标仪(型号: MK3)购自美国Thermo Fisher公司。

1.4 AA模型的建立 将筛选出的野生型小鼠和基因敲除小鼠分别分为: 正常组、模型组, 每组12只; 模型组于左后足趾皮内注射0.1 ml CFA使其致炎, 正常组给予等容量的无菌注射用水。模型组在造模后第11天小鼠足爪出现继发性肿胀, 在致炎后第28天, 10%水合氯醛腹腔麻醉后脱颈处死所有小鼠, 取其脾脏、膝关节、踝关节及血清。

1.5 体质量变化及关节炎评分情况 由致炎开始, 每隔2~3 d称量小鼠体质量, 记录其变化; 在致炎后第10、13、17、21、24、28天, 根据炎症症状进行关节炎评分。评分标准: 0分, 正常; 1分, 一个趾(指)关节红肿; 2分, 2个或以上关节红肿; 3分, 严重关节肿胀和(或)关节强直。每只小鼠的评分为4个足爪的累计评分, 最高12分。

1.6 足爪肿胀度测定 各组小鼠在致炎后第10、13、17、21、24、28天在足容积测量仪上测定右侧(继发侧)足容积, 并计算其肿胀度($\Delta ml = \text{致炎后容积} - \text{致炎前容积}$), 以观察AA小鼠继发性炎症的变化

情况。

1.7 关节及脾脏组织病理学检查 致炎后第28天, 水合氯醛麻醉后脱颈处死小鼠, 取膝关节和脾脏, 用4%多聚甲醛固定, 固定48 h后, 膝关节用10% EDTA脱钙处理一个月, 脱钙处理后石蜡包埋、切片, 进行HE染色。最后使用荧光倒置显微镜观察和拍摄病理变化。

1.8 脾脏指数测定 在致炎后第28天, 小鼠称重麻醉后脱颈处死, 剥离其脾脏并称重, 以脾脏的重量比上小鼠的体质量, 即得到脾脏指数。

1.9 免疫组织化学检测关节软骨组织中II型胶原、 $ASIC1$ 的表达情况 关节软骨组织脱钙结束后, 石蜡包埋、切片, 用枸橼酸钠缓冲液热修复; SP免疫组织化学染色, DAB显色, 苏木精复染。用PBS液代替一抗为阴性对照。显色结果镜下观察并采集。

1.10 TUNEL法检测关节软骨细胞凋亡 使用组织切片, 按照试剂盒说明操作。Roche试剂盒为CY3荧光素标记, DAPI染核, 荧光倒置显微镜下观察, 阳性凋亡细胞核为红色。每张切片随机选取8个不重叠视野计数阳性细胞数。

1.11 ELISA法检测血清中炎症细胞因子水平 各组小鼠采用眼球取血, 4℃、2 000 r/min离心20 min, 收集上清液, 保存于-80℃冰箱。按照IL-1 β 、TNF- α ELISA检测试剂盒说明书操作, 测定血清中IL-1 β 、TNF- α 的浓度。

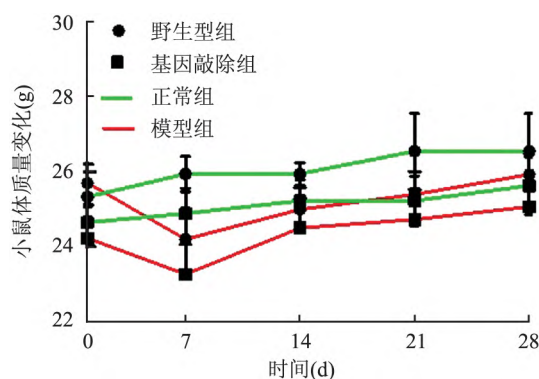
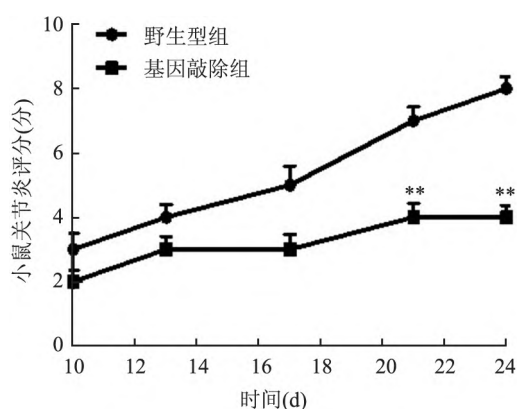
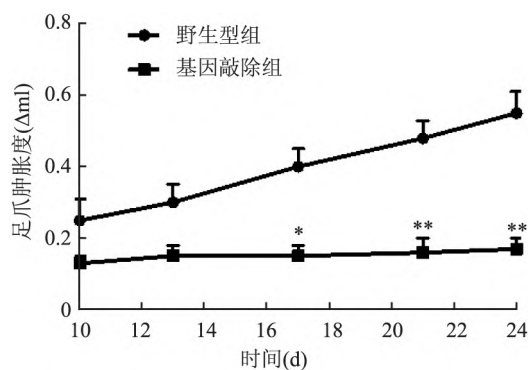
1.12 统计学处理 实验数据均采用SPSS 17.0进行统计学分析。结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠体质量水平变化 由图1看出野生型组小鼠和基因敲除组小鼠, 造模后1周时体质量出现下降, 随后体质量水平渐渐恢复。

2.2 模型组小鼠关节炎评分情况 野生型模型组小鼠在致炎后的第10天, 继发性足爪出现红肿, 总评分为4分, 在第21~24天炎症达到高峰, 总评分为9分, 平均评分为6.5分; 而基因敲除小鼠模型组炎症症状较轻, 平均评分为4分。见图2。

2.3 模型组小鼠足爪肿胀度的测定 野生型小鼠模型组, 在致炎后第10~24天, 足爪肿胀度逐渐增加; 与之相比, 基因敲除小鼠模型组足爪肿胀度减轻, 差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见图3。

图1 小鼠体质量水平变化 ($n=12$)图2 模型组小鼠关节炎评分比较 ($n=12$)
与野生型组比较: ** $P < 0.01$ 图3 模型组小鼠关节肿胀度测定 ($n=12$)
与野生型组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.4 小鼠膝关节及脾脏组织病理学变化

2.4.1 小鼠膝关节组织病理学变化 野生型正常组小鼠膝关节 HE 结果显示:滑膜组织无增生,无炎性细胞浸润,软骨细胞整齐排列,软骨表面光滑;野生型模型组小鼠膝关节病理特点为:滑膜增生,衬里层增厚,大量炎性细胞浸入,有新生血管大量生成,软骨表面被侵蚀,软骨破坏严重。而基因敲除小鼠模型组的以上病理变化明显减轻:滑膜无明显增生,炎性细胞无大量浸润,也无明显新生血管及血管翳

的生成,软骨细胞亦可看到整齐排列,软骨损伤程度明显减轻。见图 4A。

2.4.2 小鼠脾脏组织病理学变化 野生型小鼠模型组较正常组,脾脏明显增大,红髓增生,淤血;白髓增生,表现为蓝染的淋巴细胞聚集区增大,出现生发中心(受抗原刺激后,白髓里面少量 B 细胞发生转化)。基因敲除小鼠模型组的脾脏病理得到改善,红髓充血减轻,白髓增生减轻或接近正常,生发中心减少。见图 4B。

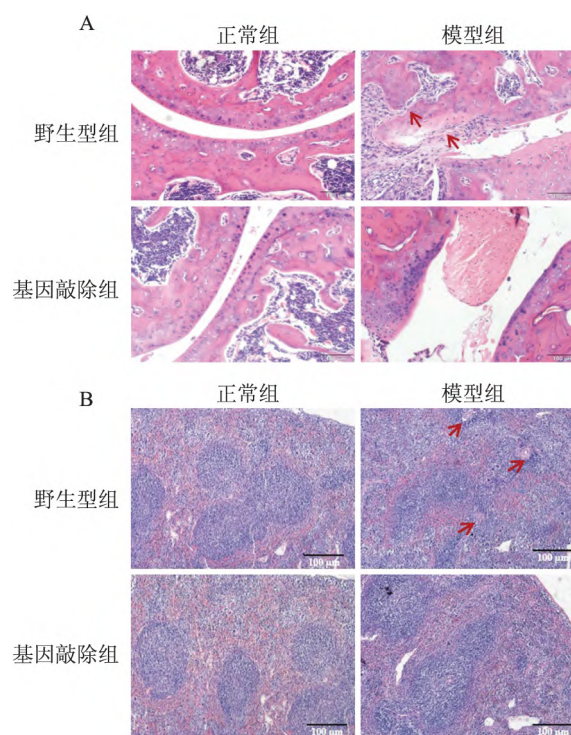


图4 小鼠关节组织和脾脏病理切片 HE 染色

A: 小鼠关节组织 $\times 100$; 红色箭头所指为炎性细胞浸润,软骨表面被侵蚀; B: 小鼠脾脏组织 $\times 100$; 红色箭头所指为生发中心

2.5 小鼠脾脏指数变化 与正常组相比,野生型小鼠模型组脾脏明显增大,脾脏指数增加($P < 0.01$);基因敲除小鼠模型组的脾脏指数较野生型小鼠模型组明显减小($P < 0.05$);基因敲除小鼠模型组较正常组,脾脏指数亦增加,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图 5。

2.6 小鼠关节软骨中 ASIC1 的表达情况 免疫组化染色结果显示:野生型正常组小鼠关节软骨着色区域颜色较浅,浅表层未着色,野生型模型组小鼠关节软骨染色呈棕黄色,尤其以浅表层细胞周围明显,而基因敲除组小鼠关节软骨未见明显着色。利用图像分析软件对 ASIC1 在关节软骨中的表达进行半定量分析,与正常组相比,野生型小鼠模型组关节

软骨中 ASIC1 表达升高, 累积吸光度值明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 提示关节炎条件下, AA 小鼠关节软骨中 ASIC1 表达增加。见图 6、7。

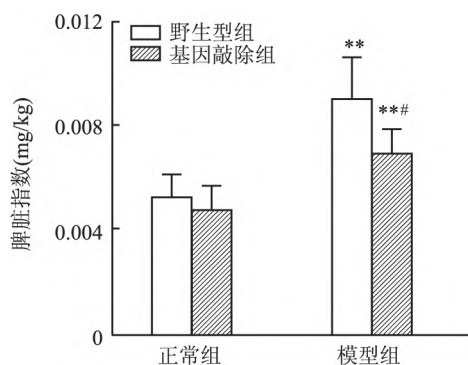


图5 小鼠脾脏指数比较 ($n = 12$)

与正常组比较: ** $P < 0.01$; 与野生型组比较: # $P < 0.05$

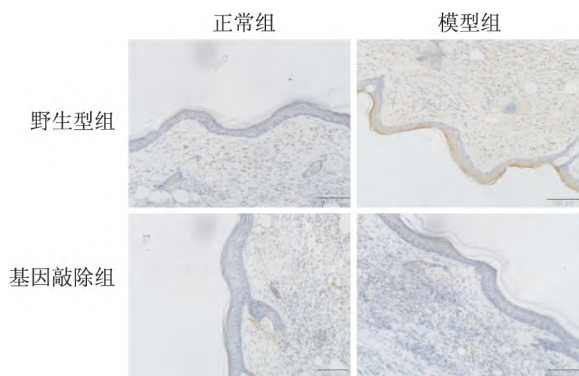


图6 免疫组织化学检测小鼠关节软骨组织中 ASIC1 的表达 $\times 100$

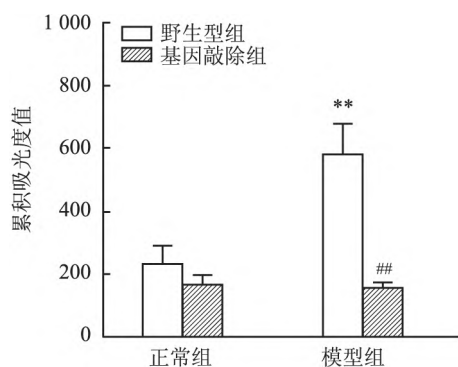


图7 各组小鼠关节软骨组织中 ASIC1 表达累积吸光度值比较

与正常组比较: ** $P < 0.01$; 与野生型组比较: ## $P < 0.01$

2.7 小鼠关节软骨中 II 型胶原的表达情况 II 型胶原是关节软骨细胞外基质中的重要组成部分, 野生型正常组小鼠关节软骨 II 型胶原分布均匀, 呈棕黄色, 表达较多, 而野生型模型组小鼠软骨浅表层软骨基质破坏严重, 着色较浅。基因敲除小鼠模型组关节软骨中 II 型胶原表达较为完整, 破坏情况减轻。

利用图像分析软件对 II 型胶原在关节软骨中的表达进行半定量分析, 野生型小鼠模型组软骨中 II 型胶原表达较正常组减少, 累积吸光度值降低 ($P < 0.01$), 主要是合成减少及破坏增多。与野生型组相比, 基因敲除小鼠模型组关节软骨中 II 型胶原的表达水平升高, 累积吸光度值增加 ($P < 0.01$), 但与正常组相比, 关节软骨基质亦遭到一定破坏, II 型胶原表达减少, 累积吸光度值降低 ($P < 0.01$)。见图 8、9。

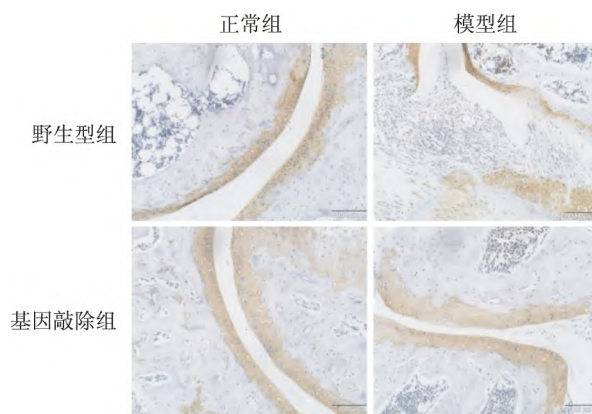


图8 免疫组织化学检测小鼠关节软骨中 II 型胶原的表达 $\times 100$

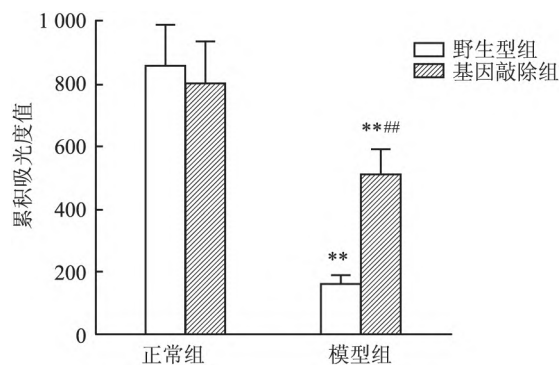


图9 各组小鼠关节软骨组织中 II 型胶原表达累积吸光度值比较

与正常组比较: ** $P < 0.01$; 与野生型组比较: ## $P < 0.01$

2.8 TUNEL 法检测关节软骨细胞的凋亡情况

在荧光显微镜下, 每个切片选取 8 个不重叠视野, 细胞核红色荧光代表阳性凋亡细胞, 进行阳性细胞计数。结果显示, 野生型模型组小鼠关节软骨中存在大量凋亡细胞 (58.24 ± 4.51), 而基因敲除模型组小鼠关节软骨中凋亡细胞数量较少 (34.23 ± 4.31), 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见图 10。

2.9 ELISA 法检测小鼠血清中细胞因子 IL-1 β 、TNF- α 的表达

野生型小鼠模型组血清中炎症细胞因子 IL-1 β 、TNF- α 表达较正常组升高 ($P < 0.01$)。与野生型组相比, 基因敲除小鼠模型组血

清中的炎症因子水平($IL-1\beta$ 、 $TNF-\alpha$)明显下降($P < 0.01$ 、 $P < 0.05$)。基因敲除小鼠模型组血清中炎症因子水平较正常组亦增加。见图 11。

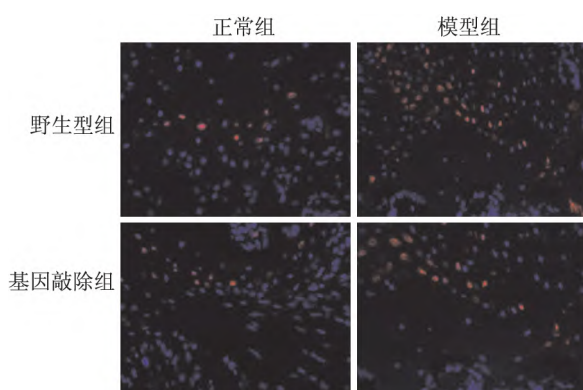


图 10 TUNEL 法检测小鼠关节软骨细胞的凋亡情况 $\times 400$

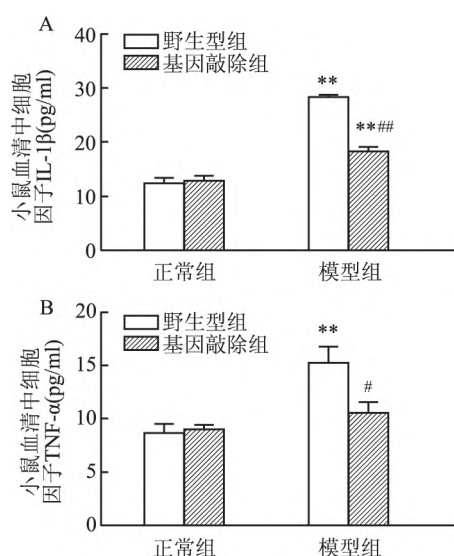


图 11 ELISA 法检测小鼠血清中 $IL-1\beta$ (A)、 $TNF-\alpha$ (B) 的浓度水平
与正常组比较: ** $P < 0.01$; 与野生型组比较: # $P < 0.05$, ### $P < 0.01$

3 讨论

RA 是一种累及多关节炎症的自身免疫性疾病,其发病呈全球性分布。骨和软骨的破坏是致残的主要病因之一。软骨组织是一种特殊的组织,由单一的软骨细胞和细胞外基质组成,软骨细胞是其唯一的细胞成分,只占软骨组织体积的 3%,其余主要为 II 型胶原、蛋白多糖和水组成的细胞外基质成分,软骨细胞在软骨形成、代谢以及修复中起着极其重要的作用^[6]。软骨细胞可以合成胶原与蛋白多糖以及其他细胞外基质,同时,它可以分泌多种炎症

性细胞因子,如 $IL-1$ 、 $IL-6$ 、 $TNF-\alpha$ 等,这些炎症因子在关节软骨病变中起着主导作用^[7]。

ASICs 在体内于中枢神经系统和外周神经系统及某些肿瘤组织中均有表达^[8]。ASICs 可被某些病理反应如局部缺血、炎症、癫痫等所激活,它们的主要病理特点是组织酸化,ASICs 活化导致胞外 Na^+ 、 Ca^{2+} 内流并激发各种病理生理效应^[9]。鉴于 RA 的重要病理特征之一也是局部组织酸化,本课题组前期探讨了 ASICs 在 RA 病程中的作用及可能机制,研究结果表明,在模拟 RA 发病历程的 AA 大鼠关节软骨中,存在 ASICs 尤其是 ASIC1a 的表达^[10],而后期研究结果表明,ASIC1a 在 AA 大鼠关节软骨细胞的凋亡^[11]、自噬^[12]、程序性坏死^[13]过程中均扮演重要角色,抑制 ASIC1a 能明显改善 AA 大鼠关节软骨破坏情况^[14]。提示 ASIC1a 在 AA 大鼠关节软骨的代谢过程中起着重要作用。

为进一步探讨 ASIC1a 在类风湿关节炎中的作用,利用 ASIC1 基因敲除小鼠来验证 ASIC1a 对关节软骨损伤以及炎症发展的影响。将野生型小鼠和基因敲除小鼠分别分为正常组和模型组;本实验中观察到基因敲除小鼠模型组致炎后继发侧足爪肿胀度较野生型小鼠模型组明显减轻。关节炎评分比较结果显示,基因敲除小鼠模型组评分低于野生型小鼠模型组,提示敲除 ASIC1 可减轻关节炎的炎症症状。同时,HE 结果显示,野生型模型组的关节软骨组织破坏较为严重,出现典型关节炎病理特点:滑膜增生,炎性细胞浸润,关节软骨遭到侵蚀性损伤;而基因敲除小鼠模型组的上述病理变化均明显减轻。脾脏病理变化亦是如此,并且脾脏指数也有显著性差异($P < 0.01$)。免疫组化结果提示,与正常组相比,野生型小鼠模型组 ASIC1 蛋白表达增加,II 型胶原表达明显减少,软骨基质破坏严重,统计学差异显著($P < 0.01$)。而基因敲除 ASIC1 可使 II 型胶原的表达得到提高,破坏情况得到改善。另外,本实验通过 TUNEL 法检测关节软骨细胞的凋亡情况,结果显示,野生型小鼠模型组出现大量凋亡阳性细胞,而敲除 ASIC1 可显著降低模型组凋亡细胞数目($P < 0.01$)。对于其炎症细胞因子的释放情况,ELISA 结果提示,野生型小鼠模型组较正常组炎症细胞因子 $IL-1\beta$ 、 $TNF-\alpha$ 水平显著升高($P < 0.01$),而基因敲除小鼠模型组血清中的 $IL-1\beta$ 、 $TNF-\alpha$ 水平均低于野生型小鼠模型组($P < 0.01$ 、 $P < 0.05$)。

以上研究结果表明,敲除 ASIC1 可明显减轻佐剂性关节炎的炎症症状,同时对于关节软骨损伤有

明显改善。ASICs 可作为一个新的病理机制参与到类风湿关节炎的发生发展中,但是对于 ASICs 在其中的具体功能还需进一步研究。

参考文献

- [1] Zhou R P ,Wu X S ,Xie Y Y ,et al. Functions of interleukin-34 and its emerging association with rheumatoid arthritis[J]. *Immunology* 2016 ,149(4) : 362 – 73.
- [2] Pan C X ,Wu F R ,Wang X Y ,et al. Inhibition of ASICs reduces rat hepatic stellate cells activity and liver fibrosis: an *in vitro* and *in vivo* study[J]. *Cell Biol Int* 2014 ,38(9) : 1003 – 12.
- [3] Kolker S J ,Walder R Y ,Usachev Y ,et al. Acid-sensing ion channel 3 expressed in type B synoviocytes and chondrocytes modulates hyaluronan expression and release[J]. *Ann Rheum Dis* 2010 ,69(5) : 903 – 9.
- [4] Yuan F L ,Chen F H ,Lu W G ,et al. Inhibition of acid-sensing ion channels in articular chondrocytes by amiloride attenuates articular cartilage destruction in rats with adjuvant arthritis [J]. *Inflamm Res* 2010 ,59(11) : 939 – 47.
- [5] 周仁鹏,吴小山,王志森等. ASIC1 基因敲除小鼠的繁殖及基因鉴定[J]. *安徽医科大学学报* 2015 ,49(9) : 1341 – 3.
- [6] Xie Y Y ,Li Y ,Zhou R P ,et al. Effects of autophagy on acid-sensing ion channel 1a-mediated apoptosis in rat articular chondrocytes[J]. *Mol Cell Biochem* 2018 ,443(1 – 2) : 181 – 91.
- [7] Bigoni M ,Zanchi N ,Omeljaniuk R J ,et al. Role of interleukin-10 in the synovial fluid of the anterior cruciate ligament injured knee[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* ,2019 ,23(3) : 932 – 40.
- [8] Uchitel O D ,González Inchauspe C ,Weissmann C. Synaptic signals mediated by protons and acid-sensing ion channels[J]. *Synapse* 2019 ,73(10) : e22120.
- [9] Sluka K A ,Winter O C ,Wemmie J A ,et al. Acid-sensing ion channels: a new target for pain and CNS diseases[J]. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2009 ,12(5) : 693 – 704.
- [10] Yuan F L ,Chen F H ,Lu W G ,et al. Acid-sensing ion channel 1a mediates acid-induced increases in intracellular calcium in rat articular chondrocytes[J]. *Mol Cell Biochem* ,2010 ,340(1 – 2) : 153 – 9.
- [11] Hu W ,Chen F H ,Yuan F L ,et al. Blockade of acid-sensing ion channels protects articular chondrocytes from acid-induced apoptotic injury[J]. *Inflamm Res* ,2012 ,61(4) : 327 – 35.
- [12] Dai B ,Zhu F ,Chen Y ,et al. ASIC1a promotes acid-induced autophagy in rat Articular chondrocytes through the AMPK/FoxO3a pathway[J]. *Int J Mol Sci* ,2017 ,18(10) : 2125.
- [13] Chen Y ,Zhu C J ,Zhu F ,et al. Necrostatin-1 ameliorates adjuvant arthritis rat articular chondrocyte injury *via* inhibiting ASIC1a-mediated necroptosis[J]. *Biochem Biophys Res Commun* 2018 ,504(4) : 843 – 50.
- [14] Rong C ,Chen F H ,Jiang S ,et al. Acid-sensing ion channels by amiloride protects rat articular chondrocytes from acid-induced apoptosis *via* a mitochondrial-mediated pathway[J]. *Cell Biol Int* ,2012 ,36(7) : 635 – 41.

Effects of ASIC1 knockout on articular cartilage injury in adjuvant arthritis of mice

Dai Beibei¹ ,Zu Shengqin² ,Zhou Renpeng² ,Chen Feihu²

(¹Dept of Pharmacy ,The Third Grade Laboratory of Traditional Chinese Medicine Chemistry of State Administration of Traditional Chinese Medicine ,The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University ,Hefei 230022;²School of Pharmacy ,Anhui Medical University ,Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the effect of acid-sensing ion channel 1 (ASIC1) gene knockout on articular cartilage injury in adjuvant arthritis (AA) of mice. **Methods** Wild-type mice and ASIC1 knockout mice were divided into normal group and model group. Arthritis score was performed by observing the inflammation of paws ,and the right paw swelling was measured. HE staining ,immunohistochemistry ,TUNEL and ELISA were used to detect the injury of articular cartilage and arthritic inflammation. **Results** The arthritis score and paw swelling of AA mice with ASIC1 knockout was lower than that of the AA wild-type mice. AA mice with ASIC1 knockout showed less destruction and increased expression of collagen-Ⅱ in articular cartilage. Moreover ,the lower apoptosis rate was observed by TUNEL assay in AA mice with ASIC1 knockout by comparing with AA wild-type mice. Furthermore ,ELISA assay showed that the levels of IL-1 β 、TNF- α in the serum decreased in AA mice with ASIC1 knockout. **Conclusion** Knockout of ASIC1 may have protective effect on articular cartilage injury.

Key words ASIC1; adjuvant arthritis; articular cartilage; rheumatoid arthritis