

## **Dexamethason Induziert die Hochregulierung Proinflammatorischer Zytokine in Einem Osteogenesemodell**

<https://www.ors.org/transactions/2023/451.pdf>

Die Osteogenese wird oft in vitro durch die Induktion der Differenzierung von mesenchymalen Stromazellen des menschlichen Knochenmarks (hBMSCs) nachgebildet. Die Verwendung des synthetischen Glukokortikoids (GC) Dexamethason zur Induktion der Zelldifferenzierung könnte jedoch die Ergebnisse beeinflussen, da es auch eine Adipozyt-Off-Target-Differenzierung fördert, die durch die höheren Expressionsniveaus von PPARG gesteuert wird.

Dexamethason ist ein häufig verwendetes entzündungshemmendes Medikament, das durch Bindung an den GC-Rezeptor (GR) wirkt. GR kann, wenn es durch Dexamethason aktiviert wird, die Expression von Zielgenen entweder durch Transaktivierung oder Transrepression kontrollieren. (+)-ZK216348, ein kürzlich entwickeltes GC, erlaubt nur die Transrepressionsaktivität des GR und bietet somit ein Werkzeug, um die Wirkungen von GC auf Zellen mit detaillierten Informationen über die aktivierten Signalwege zu verstehen. Daher zielte diese Studie darauf ab, den Effekt von Dexamethason auf die osteogene Differenzierung auf transkriptomischer Ebene zu veranschaulichen, mit besonderem Fokus auf andere Off-Target-Gene und Signalwege.

hBMSCs wurden zur osteogenen Differenzierung für 7 Tage unter Verwendung von entweder 0, 10 oder 100 nM Dexamethason oder unter Verwendung derselben Konzentration von (+)-ZK216348 oder einer Kontrolle induziert. Proben wurden zur Isolierung der Gesamt-RNA und zur cDNA-Synthese gesammelt. Eine RNA-Sequenzierung wurde unter Verwendung einer Oxford Nanopore Technologies (ONT)-Bibliothek durchgeführt und die cDNA zur qPCR-Analyse und Validierung der ausgewählten Zielgene verwendet.

Die aus den verschiedenen Behandlungsgruppen erhaltenen Ergebnisse führten zur Identifikation unterschiedlich exprimierter Gene (DEGs), die entweder durch Transaktivierung oder Transrepression der Genexpression reguliert wurden. Einige Gene wurden wie erwartet durch Dexamethason reguliert, aufgrund seiner entzündungshemmenden Eigenschaften, wie MMP1 und CXCL12, die durch Dexamethason- und (+)-ZK216348-Behandlung herunterreguliert wurden, was auf eine direkte Repression ihrer Transkription hindeutet. Im Gegensatz dazu wurden mehrere proinflammatorische Zytokine und Chemokine ebenfalls hochreguliert. IL-18 wurde dosisabhängig durch Dexamethason hochreguliert, jedoch nicht durch (+)-ZK216348, was auf eine Regulierung über direkte Transaktivierung auf der IL18-Promotorebene hindeutet.

Die Produktion proinflammatorischer Zytokine und Chemokine erfordert weitere Untersuchungen, um die Rolle dieser Moleküle in der osteogenen Differenzierung zu verstehen und die aktuellen in vitro Osteogenesemodelle zu verbessern.

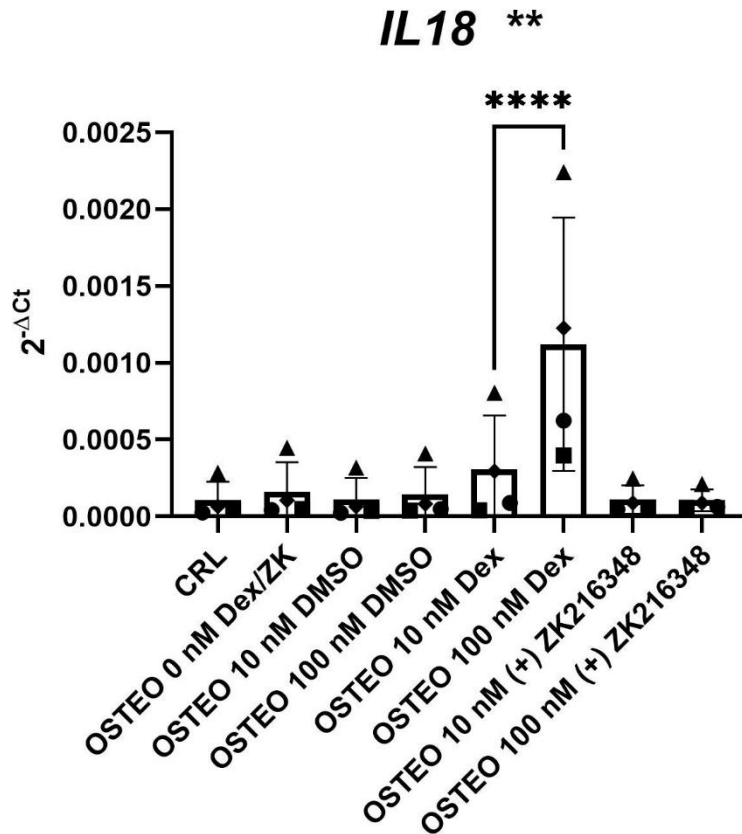


Figure 1: qPCR validation of the expression of IL18 during the first week of osteogenic differentiation of hBMSCs. IL18 was upregulated by dexamethasone only in a dose-dependent manner. Two-way ANOVA analysis with Tukey's multiple comparison test. \*\*:  $p < 0.01$ , OSTE0 10 nM Dex and OSTE0 100 nM Dex vs. all other groups; \*\*\*\*:  $p > 0.0001$ , OSTE0 10 nM Dex vs. OSTE0 100 nM Dex.

Thank you to the following members who provided translations: Baixing Chen (Chinese), Franziska Breulmann (German), and Luca Ambrosio and Elena Della Bella (Italian).

If you would like to help translate Basic Science Tips to other languages, please contact Mia Huang at [mh2467@cornell.edu](mailto:mh2467@cornell.edu).