

原发性膝骨关节炎患者血浆 cf-DNA/NETs 的检测水平及临床意义

白亚平, 王倩, 严亚玲, 张喻, 李宁, 白巧丽, 党丽丽 (空军军医大学西京医院骨科, 西安 710032)

摘要: 目的 通过检测原发性膝骨关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 患者血浆中游离脱氧核糖核酸 (circulating free DNA, cf-DNA) / 中性粒细胞胞外诱捕网 (neutrophil extracellular traps, NETs) 水平, 分析其与病情严重程度及原发性 KOA 发病的关系。方法 选取空军军医大学西京医院 2020 年 3 月 ~ 2021 年 8 月收治的 192 例原发性 KOA 患者作为观察组, 200 例体检健康人群作为对照组。检测两组受试者血浆 cf-DNA/NETs 水平; 采用凯尔格伦 - 劳伦斯 (Kellgren-Lawrence, K-L) 分级标准将观察组分为四个亚组: 原发性 KOA I 组 ($n=39$)、原发性 KOA II 组 ($n=57$)、原发性 KOA III 组 ($n=63$) 和原发性 KOA IV 组 ($n=33$); 采用西安大略和麦克马斯特大学骨关节炎指数 (Western Ontario and McMaster University Osteoarthritis Index, WOMAC) 量表评估原发性 KOA 患者病情严重程度; Pearson 分析观察组血浆 cf-DNA/NETs 水平与 K-L 分级、WOMAC 评分的相关性; Logistic 回归分析影响原发性 KOA 发病的相关因素。结果 观察组血浆 cf-DNA/NETs 水平高于对照组 (932.94 ± 106.66 ng/ml vs 86.52 ± 16.25 ng/ml), 差异有统计学意义 ($t=110.901$, $P=0.000$); 原发性 KOA I 组、原发性 KOA II 组、原发性 KOA III 组和原发性 KOA IV 组血浆 cf-DNA/NETs 水平依次升高 (836.54 ± 93.18 ng/ml, 905.29 ± 94.46 ng/ml, 950.33 ± 117.85 ng/ml 和 $1\,061.40 \pm 122.29$ ng/ml), 差异有统计学意义 ($F=28.011$, $P=0.000$)。观察组血浆 cf-DNA/NETs 水平与 K-L 分级、关节功能评分均呈正相关 ($r=0.552$, 0.627 , 均 $P=0.000$)。年龄 (OR=1.936, 95%CI: 1.273~2.945)、吸烟史 (OR=1.853, 95%CI: 1.158~2.966)、家族遗传史 (OR=1.997, 95%CI: 1.336~2.935) 和血浆 cf-DNA/NETs 水平 (OR=2.104, 95%CI: 1.441~3.071) 均是原发性 KOA 发病的危险因素 ($P=0.002$, 0.010 , 0.001 , 0.000)。结论 原发性 KOA 患者血浆 cf-DNA/NETs 呈高表达, 血浆 cf-DNA/NETs 与原发性 KOA 的发生及病情发展密切相关。检测其水平可为原发性 KOA 的预防及治疗提供参考依据。

关键词: 原发性膝骨关节炎; 游离脱氧核糖核酸; 中性粒细胞胞外诱捕网

中图分类号: R684.3; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 05-100-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.05.020

Detection Level and Clinical Significance of Plasma cf-DNA/NETs in Patients with Primary Knee Osteoarthritis

BAI Ya-ping, WANG Qian, YAN Ya-ling, ZHANG Yu, LI Ning, BAI Qiao-li, DANG Li-li

(Department of Orthopedics, Xijing Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an 710032, China)

Abstract: Objective To test the level of circulating free DNA/neutrophil extracellular traps (cf-DNA/NETs) in plasma of patients with primary knee osteoarthritis (KOA), and analyze the relationship between it and the severity of the disease and the morbidity of primary KOA. **Methods** 192 patients with primary KOA treated in Xijing Hospital of Air Force Military Medical University from March 2020 to August 2021 were selected as the observation group and 200 healthy people as the control group. The plasma cf-DNA/NETs levels of the two groups were measured. The observation group was divided into four subgroups according to KellgrenLawrence (K-L) classification standard: primary KOA I group ($n=39$), primary KOA II group ($n=57$), primary KOA III group ($n=63$) and primary KOA IV group ($n=33$). Western Ontario and McMaster University Osteoarthritis Index (WOMAC) was used to evaluate the severity of primary KOA patients. Pearson analysis was used to analyze the correlations between plasma cf-DNA/NETs level and K-L grade, WOMAC score of the observation group, and Logistic regression analysis was used to analyze the related factors affecting the incidence of primary KOA. **Results** The level of plasma cf-DNA/NETs in the observation group was higher than control group (932.94 ± 106.66 ng/ml vs 86.52 ± 16.25 ng/ml), the difference was statistically significant ($t=110.901$, $P=0.000$). The level of plasma cf-DNA/NETs in primary KOA I group, primary KOA II group, primary KOA III group and primary KOA IV group increased in turn (836.54 ± 93.18 ng/ml, 905.29 ± 94.46 ng/ml, 950.33 ± 117.85 ng/ml, $1\,061.40 \pm 122.29$ ng/ml), the difference was statistically significant ($F=28.011$,

作者简介: 白亚平 (1985-), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 骨关节炎诊治, E-mail: yapingbai876@163.com。

通讯作者: 王倩 (1977-), 女, 本科, 副主任医师, 研究方向: 骨关节炎诊治, E-mail: 15829880666@163.com。

$P=0.000$). The level of plasma cf-DNA/NETs was positively correlated with K-L grade and joint function score in observation group ($r=0.552, 0.627$, all $P=0.000$). Age (OR=1.936, 95%CI:1.273~2.945), smoking history (OR=1.853, 95%CI:1.158~2.966), family genetic history (OR=1.997, 95%CI: 1.336~2.935) and plasma cf-DNA/NETs level (OR=2.104, 95%CI: 1.441~3.071) were all risk factors for primary KOA ($P=0.002, 0.010, 0.001, 0.000$). **Conclusion** Plasma cf-DNA/NETs was highly expressed in patients with primary KOA, plasma cf-DNA/NETs was closely related to the occurrence and development of primary KOA. Detecting its level may provide a reference basis for the prevention and treatment of primary KOA.

Keywords: primary knee osteoarthritis; circulating free DNA; neutrophil extracellular traps

膝骨关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 是多发于中老年人群的一种慢性退行性疾病, 由膝关节软骨退变损伤、剥落为病理特点, 临床主要表现为膝关节疼痛及功能障碍, 严重影响患者正常生活^[1-2]。KOA 可分为原发性 KOA 和继发性 KOA, 继发性 KOA 通常是关节局部在由外伤、先天畸形等所致的关节损伤病变基础上形成, 原发性 KOA 的发病机制尚不明确^[3]。中性粒细胞是组成机体免疫系统的主要成员之一, 受到刺激后产生中性粒细胞胞外诱捕网 (neutrophil extracellular traps, NETs), NETs 由骨架脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) 和镶嵌其中的抗微生物颗粒蛋白组成, 是中性粒细胞吞噬清除病原体新发现的途径^[4]。NETs 使粒细胞蛋白和 DNA 在肽基精氨酸脱氨酶 4 和弹性蛋白酶介导下进入胞外环境的杀菌机制已被广泛报道^[5], 但与原发性 KOA 的临床研究鲜见报道。本研究旨在探讨原发性 KOA 患者血浆中游离 DNA (circulating free DNA, cf-DNA) /NETs 水平的临床意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取空军军医大学西京医院 2020 年 3 月 ~ 2021 年 8 月收治的 192 例原发性 KOA 患者作为观察组, 其中男性 81 例, 女性 111 例, 年龄 50~80 (62.18 ± 7.38) 岁, 体质指数 (body mass index, BMI) 19~26 (23.26 ± 2.56) kg/m^2 , 吸烟史 47 例, 家族遗传史 21 例。纳入标准: ①符合《骨关节炎诊疗指南 (2018 年版)》中 KOA 诊断标准^[6]; ②单膝发病; ③年龄 50~80 岁。排除标准: ①有心、肝、肾等重要脏器功能不全者; ②继发性 KOA; ③伴自身免疫性疾病者; ④近 6 个月接受药物或手术治疗者。根据凯尔格伦-劳伦斯 (Kellgren-Lawrence, K-L) 分级标准^[6]将观察组分为四个亚组: 39 例原发性 KOA I 组 (可疑骨赘)、57 例原发性 KOA II 组 (明确骨赘, 但未累及关节间隙)、63 例原发性 KOA III 组 (关节间隙中度狭窄) 和 33 例原发性 KOA IV 组 (关节间隙明显狭窄, 软骨下骨硬化)。另外选取同期体检健康人群 200 例作为对照组, 其中男性 97 例, 女性 103 例, 年龄 49~78 (62.16 ± 7.32) 岁, BMI 19~26 (23.01 ± 2.47) kg/m^2 ,

吸烟史 55 例。对照组和观察组性别、年龄、BMI, 吸烟史比较, 差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。本次研究通过医院伦理委员会批准, 研究对象均签署知情同意书。

1.2 仪器与试剂 离心机 (广州吉迪仪器有限公司, 型号 JIDI-4M), 多功能酶标仪 (美国 Thermo 公司, 型号 Varioskan Flash), PicoGreen 荧光染料 (南通飞宇生物科技有限公司, 批号 FY19275)。

1.3 方法

1.3.1 PicoGreen 荧光染料法检测血浆 cf-DNA/NETs 水平: 观察组于确诊后治疗前、对照组于体检时, 清晨抽取空腹静脉血 5 ml, 置于含枸橼酸钠的抗凝管中, 将血液样本在 4℃ 低速离心 10 min ($4\ 800\ \text{r/min}$) 分离血浆, 置 -70℃ 保存。检测时将 100 μl 复温后血浆样本与 100 μl PicoGreen 荧光染料混合, 避光孵育 5 min, 采用多功能酶标仪检测荧光值并绘制标准曲线, 以此计算标本血浆中 cf-DNA/NETs 水平。

1.3.2 病情严重程度评定: 原发性 KOA 患者于确诊后在治疗前根据西安大略和麦克马斯特大学骨关节炎指数 (Western Ontario and McMaster University Osteoarthritis Index, WOMAC) 量表^[7]从疼痛、僵硬、关节功能三个方面评估原发性 KOA 症状严重程度, 分值越高对应病情越严重, 记录观察组 WOMAC 评分。

1.4 统计学分析 采用 SPSS24.0 统计学软件处理数据。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 SNK- q 检验; 计数资料以例数表示, 采用卡方检验; Pearson 分析原发性 KOA 患者血浆 cf-DNA/NETs 水平与 K-L 分级。WOMAC 评分的相关性; 多因素 Logistic 回归分析影响原发性 KOA 发病的因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组、观察组血浆 cf-DNA/NETs 水平比较 与对照组 ($86.52 \pm 16.25\text{ng/ml}$) 比较, 观察组血浆 cf-DNA/NETs ($932.94 \pm 106.66\text{ng/ml}$) 水平较高, 差异有统计学意义 ($t=110.901, P=0.000$)。

2.2 原发性KOA患者各亚组血浆cf-DNA/NETs水平比较 原发性KOA I组、原发性KOA II组、原发性KOA III组和原发性KOA IV组血浆cf-DNA/NETs水平依次升高($836.54 \pm 93.18 \text{ ng/ml}$, $905.29 \pm 94.46 \text{ ng/ml}$, $950.33 \pm 117.85 \text{ ng/ml}$, $1061.40 \pm 122.29 \text{ ng/ml}$), 差异有统计学意义($F=28.011$, $P<0.05$)。原发性KOA II组、原发性KOA III组、原发性KOA IV组与原发性KOA I组比较($t=4.126, 7.511, 12.786$), 原发性KOA III组、原发性KOA IV组与原发性KOA II组比较($t=3.682, 9.906$), 原发性KOA IV组与原发性KOA III组比较($t=6.952$), 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。

2.3 原发性KOA患者血浆cf-DNA/NETs水平与K-L分级相关性分析 见图1。Pearson分析结果显示, 观察组血浆cf-DNA/NETs水平与K-L分级呈正相关($r=0.552$, $P=0.000$), K-L分级越高, 血浆cf-DNA/NETs水平越高。

2.4 原发性KOA患者血浆cf-DNA/NETs水平与WOMAC评分相关性 观察组WOMAC总评分为 61.68 ± 10.67 分, 其中疼痛评分为 11.97 ± 2.84 分, 僵硬评分为 3.87 ± 1.16 分, 关节功能评分为 45.84 ± 6.67 分。Pearson相关分析结果显示, 观察

组血浆cf-DNA/NETs水平与疼痛评分、僵硬评分、WOMAC总评分无相关性($r=0.107, 0.153, 0.200$; $P=0.515, 0.314, 0.459$), 与关节功能评分呈正相关($r=0.627$, $P=0.000$)。

2.5 影响原发性KOA发病的多因素Logistic回归分析 见表1。以是否患有原发性KOA为因变量, 以性别、年龄、BMI, 吸烟史、家族遗传史、血浆cf-DNA/NETs水平为自变量进行多因素Logistic回归分析, 结果表明, 年龄、吸烟史、家族遗传史、血浆cf-DNA/NETs水平均是原发性KOA发病的危险因素(均 $P<0.05$)。

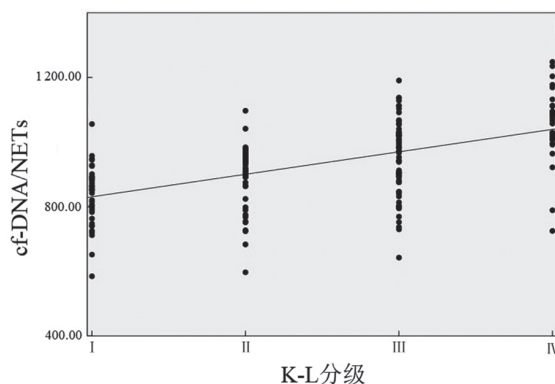


图1 原发性KOA患者血浆cf-DNA/NETs水平, K-L分级散点图

表1 影响原发性KOA发病的多因素Logistic回归分析结果

变量	β	SE	Wald χ^2	OR	95% CI	P
性别	0.264	0.169	2.438	1.302	0.935 ~ 1.813	0.118
年龄	0.661	0.214	9.530	1.936	1.273 ~ 2.945	0.002
BMI	0.208	0.148	1.972	1.231	0.921 ~ 1.645	0.160
吸烟史	0.617	0.240	6.605	1.853	1.158 ~ 2.966	0.010
家族遗传史	0.692	0.205	11.383	1.997	1.336 ~ 2.985	0.001
cf-DNA/NETs	0.744	0.193	14.854	2.104	1.441 ~ 3.071	0.000

3 讨论

中性粒细胞胞外诱捕网(NETs)的网状结构能够诱捕病原体, 减少其扩散至血液, 同时NETs骨架DNA上的大量抗菌蛋白, 对病原体起到有效的防御作用^[8-9], 但调节功能紊乱时, NETs对机体组织造成损伤^[10]。NETs的形成以胞外DNA水平增加为标志, 已被证实和多种疾病相关^[11-12]。孟强等^[13]研究发现, 与非感染全身炎症反应综合征患者相比, 脓毒症患者血浆cf-DNA/NETs水平较高, 对于脓毒症有一定诊断价值, 能反映脓毒症患者病情发展程度, 高水平的cf-DNA/NETs对于脓毒症患者预后发生死亡事件有一定预测价值。白塞病(即贝赫切特综合征)是全身性免疫系统疾病的一种, 属于慢性血管炎, 研究发现^[14], 白塞病患者血管炎及血栓形成区域检测到NETs, 活动期白塞病患者血清cf-DNA水平与非活动期白塞病患者、健康体检者

比较均较高; 血管受累白塞病患者血清cf-DNA水平较无血管受累白塞病患者高, NETs可能与促凝血有关, 有成为减少或预防白塞病血栓形成风险的潜在治疗靶点。张慧等^[15]研究发现, NETs对类风湿关节炎滑膜成纤维细胞的增殖产生促进作用, 随着NETs水平升高, 类风湿关节炎滑膜成纤维细胞增殖能力越强, NETs经脱氧核糖核酸酶I预处理后, 类风湿关节炎滑膜成纤维细胞的促增殖作用受到抑制, 该机制可能是类风湿关节炎患者的主要致病原因, 也是一个治疗的新思路。

本研究结果发现, 原发性KOA患者血浆cf-DNA/NETs水平高于体检健康人群, 与孟强等^[13-14], 研究结果相似, 提示cf-DNA/NETs可能参与原发性KOA的发生。进一步研究发现, 原发性KOA I组、原发性KOA II组、原发性KOA III组和原发性KOA IV组血浆cf-DNA/NETs水平依次升高, 提示

cf-DNA/NETs 参与原发性 KOA 的发展, 原因可能是免疫应答过程产生过量 NETs, 未能有效清除, 高水平的 NETs 对膝关节造成损伤。Pearson 相关分析结果显示, 原发性 KOA 患者血浆 cf-DNA/NETs 水平与 K-L 分级、关节功能评分均呈正相关, 与疼痛评分、僵硬评分、WOMAC 总评分无相关性, 提示血浆 cf-DNA/NETs 水平可以反映原发性 KOA 患者病情严重程度及关节日常活动功能障碍。

KOA 患者的膝关节软骨损伤存在不可逆性, 治疗困难, 病因及发病机制尚未阐明, 因此控制危险因素以减少发病率具有重要临床意义^[16-18]。研究表明性别、年龄、BMI, 吸烟史均是 KOA 发病的危险因素^[19]。王欢等^[20]调查发现女性原发性 KOA 发病率高于男性, 原发性 KOA 发病率与年龄呈正相关。郭利刚等^[21]研究发现, 原发性 KOA 患者与健康体检者同性别上胫腓关节面坡度相比差异均有统计学意义, 上胫腓关节面坡度与 K-L 分级呈正相关, 是原发性 KOA 发病的危险因素。易志勇等^[22]从基因多态性的角度分析发现, KOA 患者 ERa 基因 Xba I 多态性位点的等位基因 x 频率分布较健康人群高, ERa 基因 Xba I 多态性位点的 x 等位基因与 KOA 的发生有一定关系。本研究结果发现, 年龄、吸烟史、家族遗传史、血浆 cf-DNA/NETs 水平均是原发性 KOA 发病的危险因素, 提示可通过控制上述危险因素预防原发性 KOA 的发生, 除了既往研究报道的危险因素年龄、吸烟史、家族遗传史外, 还应关注血浆 cf-DNA/NETs 水平升高的患者, 以便能及时采取措施治疗原发性 KOA。

综上所述, cf-DNA/NETs 在原发性 KOA 患者血浆中呈高表达, 血浆 cf-DNA/NETs 水平与原发性 KOA 的发生及病情发展密切相关, 是原发性 KOA 发病的危险因素, 检测其水平可为原发性 KOA 的预防及治疗提供参考依据, 具体机制尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] NANJO K, IKEDA T, NAGASHIO N, et al. Gait speed and pain status as discriminatory factors for instrumental activities of daily living disability in older adults with knee osteoarthritis[J]. *Geriatrics & Gerontology International*, 2021, 21(8): 683-688.
- [2] 赵娜, 康利宝. 创伤性膝骨关节炎患者血清 IL-6、TNF- α 、瘦素水平表达与影像学 K-L 分级的相关性[J]. *现代检验医学杂志*, 2019, 34(5):139-142.
ZHAO Na, KANG Libao. Association between levels of serum inflammatory cytokines and imaging severity in patients with post-traumatic knee osteoarthritis [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2019, 34(5):139-142.
- [3] EL-GOHARY R, DIAB A, EL-GENDY H, et al. Using intra-articular allogenic lyophilized growth factors in primary knee osteoarthritis: a randomized pilot study[J]. *Regenerative Medicine*, 2021, 16(2): 113-115.
- [4] AI Peng, PAN Hao, CHEN Kui, et al. Viral mimetic poly(I:C) induces neutrophil extracellular traps via PAD4 to promote inflammation and thrombosis[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2021, 565(1): 64-71.
- [5] ABD EL HAFEZ A, MOHAMED A S, SHEHTA A, et al. Neutrophil extracellular traps-associated protein peptidyl arginine deaminase 4 immunohistochemical expression in ulcerative colitis and its association with the prognostic predictors[J]. *Pathology Research and Practice*, 2020, 216(10): 153102.
- [6] 中华医学会骨科学分会关节外科学组. 骨关节炎诊疗指南(2018年版)[J]. *中华骨科杂志*, 2018, 38(12): 705-715.
Joint Surgery Branch of the Chinese Orthopedic Association. Chinese clinical practice guideline for pain management in osteoarthritis (2020 edition) [J]. *Chinese Journal of Orthopaedics*, 2018, 38(12):705-715.
- [7] PONKILAINEN V T, HÄKKINEN A H, UIMONEN M M, et al. Validation of the western Ontario and McMaster Universities osteoarthritis index in patients having undergone ankle fracture surgery[J]. *The Journal of Foot and Ankle Surgery*, 2019, 58(6): 1100-1107.
- [8] 张克恭, 何文昌, 郭小凤, 等. 中性粒细胞胞外诱捕网形成机制的研究进展[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2020, 36(6): 561-564.
ZHANG Kegong, HE Wenchang, GUO Xiaofeng, et al. Progress in mechanism of formation of neutrophil extracellular traps: Review [J]. *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 2020, 36(6):561-564.
- [9] 王迪, 吴静, 于丽, 等. 中性粒细胞胞外诱捕网产生的分子机制及其在相关疾病中的作用[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2021, 41(1): 69-73.
WANG Di, WU Jing, YU Li, et al. Function and formation mechanism of neutrophil extracellular traps in related diseases [J]. *Chinese Journal of Microbiology and Immunology*, 2021, 41(1):69-73.
- [10] 李福兴, 张自华, 李雪梅. 中性粒细胞胞外诱捕网在炎症性疾病中的研究进展[J]. *东南国防医药*, 2021, 23(4): 378-382.
LI Fuxing, ZHANG Zihua, LI Xuemei. Advances in research on the neutrophil extracellular traps in inflammatory diseases [J]. *Military Medical Journal of Southeast China*, 2021, 23(4):378-382.
- [11] 陈春燕, 马小容, 杨巍. MEWS 评分联合外周血 cf-DNA/NETs 水平对重症肺炎病情及预后的评估价值[J]. *临床和实验医学杂志*, 2021, 20(18):1970-1973.
CHEN Chunyan, MA Xiaorong, YANG Wei. Value of MEWS combined with peripheral blood cf-DNA/NETs levels in assessing the severity and prognosis of severe pneumonia [J]. *Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2021, 20(18):1970-1973.
- [12] 颜博, 岳宗伟, 李华坚, 等. 卒中相关性肺炎患者感染病原菌种类及其与血清 cf-DNA/NETs 的相关性[J]. *中国病原生物学杂志*, 2021, 16(8): 937-939, 946.

- YAN Bo, YUE Zongwei, LI Huajian, et al. Characteristics of pathogens in patients with stroke-associated pneumonia and their correlation with serum cf-DNA/NETs[J]. Journal of Parasitic Biology, 2021, 16(8):937-939, 946.
- [13] 孟强, 屈峰, 董伟, 等. 外周血游离 DNA/NETs 在脓毒症诊断和预后评估中的应用价值 [J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2018, 17(3):255-258.
- MENG Qiang, QU Feng, DONG Wei, et al. Clinical value of peripheral serum cf-DNA/NETs level in diagnosis and severity assessment of sepsis patients [J]. Chinese Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2018, 17(3):255-258.
- [14] LE JONCOUR A, MARTOS R, LOYAU S, et al. Critical role of neutrophil extracellular traps (NETs) in patients with Behcet's disease[J]. Annals of the Rheumatic Diseases, 2019, 78(9): 1274-1282.
- [15] 张慧, 封昱辰, 康国荣, 等. 中性粒细胞胞外诱捕网在类风湿关节炎致病机制中的初步探究 [J]. 中华风湿病学杂志, 2019, 23 (5) : 305-308, 后插 1.
- ZHANG Hui, FENG Yuchen, KANG Guorong, et al. A preliminary study on the pathogenesis of neutrophil extracellular traps in rheumatoid arthritis [J]. Chinese Journal of Rheumatology, 2019, 23(5):305-308, Insert after 1.
- [16] UCHINO S, SAITA Y, WADA A, et al. The immature platelet fraction affects the efficacy of platelet rich plasma therapy for knee osteoarthritis[J]. Regenerative Therapy, 2021, 18(1): 176-181.
- [17] TAMBIAH J R S, KENNEDY S, SWEARINGEN C J, et al. Individual participant symptom responses to intra-articular loxapine in knee osteoarthritis: post hoc analysis of a phase 2B trial[J]. Rheumatology and Therapy, 2021, 8(2): 973-985.
- [18] SORKPOR S K, GALLE K, TEIXEIRA A L, et al. The relationship between plasma BDNF and pain in older adults with knee osteoarthritis[J]. Biological Research for Nursing, 2021, 23(4): 629-636.
- [19] 许成燕, 陈军香, 王教明, 等. 中国人群膝骨关节炎危险因素的 Meta 分析 [J]. 中国循证医学杂志, 2021, 21(7):772-778.
- XU Chengyan, CHEN Junxiang, WANG Jiaoming, et al. The risk factors for knee osteoarthritis among Chinese population: A meta-analysis [J]. Chinese Journal of Evidence-Based Medicine, 2021, 21(7):772-778.
- [20] 王欢, 孙贺, 张耀南, 等. 中国 40 岁以上人群原发性膝骨关节炎各间室患病状况调查 [J]. 中华骨与关节外科杂志, 2019, 12(7):528-532.
- WANG Huan, SUN He, ZHANG Yaonan, et al. Morbidity of primary knee osteoarthritis in different compartments in Chinese population aged over 40 years old [J]. Chinese Journal of Bone and Joint Surgery, 2019, 12(7):528-532.
- [21] 郭利刚, 郭庆功, 王胜利, 等. 上肢腓关节面坡度与原发性膝骨关节炎的相关性研究 [J]. 中华解剖与临床杂志, 2018, 23(5):384-387.
- GUO Ligang, GUO Qinggong, WANG Shengli, et al. The effects of upper tibiofibular joint surface slope on primary knee osteoarthritis [J]. Chinese Journal of Anatomy and Clinics, 2018, 23(5):384-387.
- [22] 易志勇, 韩清民, 郭斯印. ERa 基因多态性与女性膝骨性关节炎经筋分型及中医证型的相关性研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2019, 36(12):1900-1906.
- YI Zhiyong, HAN Qingmin, GUO Siyin. Correlation of ERa genetic polymorphisms with muscle-along-meridian classification and traditional Chinese medicine syndrome types of knee osteoarthritis in women [J]. Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 2019, 36(12):1900-1906.

收稿日期: 2021-11-27

修回日期: 2022-01-20

(上接第 80 页)

- [15] MELINCOVICI C S, BOSCA A B, SUSMAN S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis[J]. Romanian Journal of Morphology and Embryology, 2018, 59(2): 455-467.
- [16] YOUNG M R, COLBURN N H. Fra-1 a target for cancer prevention or intervention [J]. Gene, 2006, 379: 1-11.
- [17] RATTANASINCHAI C, LLEWELLYN B J, CONRAD S E, et al. MLK3 regulates FRA-1 and MMPs to drive invasion and transendothelial migration in triple-negative breast cancer cells[J]. Oncogenesis, 2017, 6(6): e345.
- [18] MCCULLOUGH L E, COLLIN L J, CONWAY K, et al. Reproductive characteristics are associated with gene-specific promoter methylation status in breast cancer[J]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 926.
- [19] 周秋媛, 李虹, 王红莉, 等. Fra-1 在乳腺癌细胞中高表达原因及其启动子高转录活性的分子机制研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2017(22): 3113-3115.
- ZHOU Qiuyuan, LI Hong, WANG Hongli, et al. Causes of Fra-1 high expression in breast cancer cells and molecular mechanism of Fra-1 high transcription activity [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2017(22):3113-3115.
- [20] TATOSYAN K A, STASENKO D V, KOVAL A P, et al. TATA-like boxes in RNA polymerase III promoters:Requirements for nucleotidesequences[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(10): 3706.
- [21] GAO Yue, ZENG Fan, WU Jiayan, et al. MiR-335 inhibits migration of breast cancer cells through targeting oncoprotein c-Met[J]. Tumour Biology, 2015, 36(4): 2875-2883.

收稿日期: 2021-08-16

修回日期: 2022-06-22