

骨 科 学

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.002715

基于生物信息学探究骨关节炎基因及治疗药物

葛永军¹, 张 焱¹, 樊 嵘¹, 宣 勇²

(1. 中国人民解放军联勤保障部队第 904 医院骨科, 无锡 214000; 2. 合肥市第二人民医院骨科, 合肥 230000)

【摘要】目的:基于生物信息学的方法探索骨关节炎(osteoarthritis, OA)的发病基因和潜在治疗药物。**方法:**利用网络基因表达数据库(gene expression omnibus, GEO)下载关于骨关节炎的芯片 GSE55235、GSE12021 和 GSE55457。通过 R 语言软件分析获得差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)。通过 DAVID 在线数据库对 DEGs 进行 GO 富集分析和 KEGG 通路分析。利用 String 数据库对 DEGs 进行蛋白互作分析并通过 Cytoscape 软件进行可视化。通过连接图(connectivity map, cMap)数据库分析具有潜在治疗性 OA 的小分子药物。**结果:**共获得 67 个 DEGs, 其中 18 个基因表达上调, 49 个基因表达下调。GO 分析表明, DEGs 的生物学过程集中在细胞增殖、细胞黏附、机械刺激反应、成骨细胞分化和细胞对钙离子反应的调节上, 参与细胞外空间、内质网膜和细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶全酶复合物等细胞组成。分子功能包括蛋白质同二聚化活性、生长因子活性、转录因子活性、RNA 聚合酶 II 核心启动子近端区域序列特异性结合、蛋白质异二聚化活性、过氧化物酶活性、MAP 激酶酪氨酸/丝氨酸/苏氨酸磷酸酶活性。KEGG 通路分析表明, 这些 DEGs 主要参与破骨细胞分化、TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用和 Jak-STAT 信号通路。从 PPI 网络中鉴定出前 10 个中枢基因是 *IL-6*、*JUN*、*VEGFA*、*ATF3*、*DUSP1*、*MYC*、*PTGS2*、*JUNB*、*CDKN1A* 和 *CD44*。还筛选了一些用于治疗 OA 的潜在小分子药物, 如雌二醇和来氟米特。**结论:**所选择的关键基因可能是 OA 的诊断标志物和潜在治疗靶点, 所选择的小分子药物可能是治疗 OA 的潜在治疗药物。

【关键词】骨关节炎; 基因; 药**【中图分类号】**Q78**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2020-04-27

Exploring osteoarthritis genes and therapeutic drugs based on bioinformatics

Ge Yongjun¹, Zhang Yan¹, Fan Rong¹, Xuan Yong²

(1. Department of Orthopedic Surgery, The 904 Hospital of the Joint Logistic Support Force of PLA;

2. Department of Orthopedic Surgery, The Second People's Hospital of Hefei)

【Abstract】Objective: To explore the key pathogenic genes involved in osteoarthritis(OA) and potential therapeutic drugs for OA by bioinformatics. **Methods:** The expression profiles of GSE55235, GSE12021 and GSE55457 were downloaded from the gene expression omnibus(GEO) database. The microarray data were integrated to obtain differentially expressed genes(DEGs) by R software. The gene ontology(GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes(KEGG) pathway enrichments of DEGs were performed by DAVID online analyses. The protein-protein interaction(PPI) was analyzed by using STRING online database and visual editing by Cytoscape software. Finally, small molecule drugs with potential therapeutic OA were analyzed by connectivity map(cMap) database. **Results:** A total of 67 DEGs were obtained, of which 18 genes were up-regulated and 49 genes were down-regulated. GO analysis showed that the biological process of DEGs focused on cell proliferation, cell adhesion, response to mechanical stimulus, osteoblast differentiation, and the regulation of cellular response to calcium ions. The main cell composition included extracellular space, endoplasmic reticulum membrane and cyclin-dependent protein kinase holoenzyme complex. The molecular functions included protein homodimerization activity, growth factor activity, transcription factor activity, RNA polymerase II core promoter proximal region sequence-specific binding, protein heterodimerization activity, peroxidase activity, and MAP kinase tyrosine/serine/threonine phosphatase activity. KEGG pathway analysis showed that these DEGs were mainly involved in the osteoclast differentiation, TNF signaling pathway, PI3K-Akt signaling pathway, MAPK signaling pathway, cytokine-cytokine receptor interaction and Jak-STAT signaling pathway. The top 10 hub genes *IL-6*, *JUN*, *VEGFA*, *ATF3*, *DUSP1*, *MYC*, *PTGS2*, *JUNB*, *CDKN1A* and *CD44* were identified from the PPI network. Some potential small molecular drugs for the treatment of OA, such as estradiol and leflunomide, were also been screened. **Conclusion:**

作者介绍: 葛永军, Email: yiqiliuliang@sina.com,

研究方向: 骨关节方向。

通信作者: 宣 勇, Email: 464895170@qq.com。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20201218.0841.002.html>

(2020-12-21)

The selected key genes may be the diagnostic markers and potential therapeutic targets of OA, and the selected small molecular drugs may be potential therapeutic drugs for OA treatment.

【Key words】osteoarthritis; gene; drug

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是临床上最常见的慢性关节病,常引起关节疼痛、肿胀、僵硬、功能下降和运动受限^[1-2]。其主要特征是软骨退化、滑膜炎、骨赘形成和软骨下骨硬化^[3]。目前,用于治疗 OA 的药物主要依赖非甾体类抗炎药。然而,这些药物只能改善症状但无法治愈该疾病。研究表明,OA 与年龄、性别和关节负荷有关^[4]。OA 的具体机制和病因尚不清楚。更有效的诊断和治疗对于了解细胞增殖和凋亡中涉及的分子机制及筛选用于治疗 OA 的小分子药物更为重要。

微阵列是用于分析基因表达的高通量平台之一。全基因组关联研究可以确定潜在的遗传变异,可用作早期诊断和靶向治疗的生物标志物^[5]。目前,基因表达芯片已广泛用于研究许多人 OA 中的基因表达谱,为研究 OA 相关差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs) 提供了一种新的方法。基因表达芯片在分子预测和治疗以及基于药物的分子靶向方面具有广阔的前景^[6]。随着微阵列的发展,大量数据已经在公共数据库平台上发布并且很容易获得。然而,由于研究目的和组织特异性的差异,大多数数据未得到有效利用^[7]。基于以往研究的结果,利用生物信息学技术重新分析基因芯片数据,有望为研究 OA 的发病机制和治疗靶点提供新的思路。

本研究使用生物信息学筛选出涉及 OA 的关键基因和途径。在分子水平上展示了 OA 发展的进一步见解,并探索了 OA 诊断和潜在治疗药物的生物标志物。

1 材料和方法

1.1 微阵列数据

从网络基因表达数据库 (gene expression omnibus, GEO; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 下载 3 个基因微阵列数据 (GSE55235、GSE12021 和 GSE55457)。该芯片基于 GPL96 (affymetrix human genome U133A Array) 平台。GSE55235 芯片包括 10 个 OA 滑膜样品和 10 个正常滑膜样品。GSE12021 芯片包括 10 个 OA 滑膜样品和 9 个正常滑膜样品。GSE55457 芯片包括 10 个 OA 滑膜样品和 10 个正常滑膜样品。3 个芯片信息见表 1。

1.2 DEG 的数据预处理和筛选

所有芯片数据由 R 软件 affy 包预处理,通过背景调整、

标准化和汇总,并根据平台注释信息将探针转换为相应的基因名称。使用 R 软件 limma 包筛选 OA 与正常滑膜之间的 DEGs,筛选条件:调整 $P < 0.05$ 和 $|\log_2 \text{FC}| > 2$ 。三者之间的重叠 DEGs 数据集用 R 软件 VennDiagram 包 Venn 图显示。

1.3 GO 和 KEGG 富集分析

DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 用于提供基因生物学功能的系统注释信息。通过 DAVID 在线数据库获得 GO 富集和 KEGG 通路分析。GO 富集分析包括生物过程 (biological processes, BP)、细胞成分 (cell component, CC) 和分子功能 (molecular functions, MF)。KEGG 筛选条件:基因数 > 2 且 $P < 0.05$ 。

1.4 PPI 网络分析

通过 STRING 在线数据 10.5 (<https://string-db.org/cgi/input.pl>) 构建 DEGs 的蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络,网站中数据是从实验数据中获得,以识别蛋白质之间的相互作用。并通过 Cytoscape 软件版本 v3.6.1 可视化 PPI 网络。另外,每个节点和节点之间的连接代表这些生物分子的相互作用,degree 通常代表基因编码的蛋白质或分子在网络中的重要性。

1.5 潜在治疗药物筛选

连接图 (cMap, <http://www.broad.mit.edu/cMap>) 是一个公共数据库。它收集了用小分子处理的培养人类细胞的 7 000 多个表达谱,这些细胞以前曾用于探索药物的机制,并确定新的潜在药物^[8]。将 PPI 网络中的差异表达基因上传至 cMap 在线数据库,以探索 OA 的潜在药物。富集分数范围为 $-1 \sim 1$ 。根据相关系数分数大小选择结果,选择负相关的小分子化合物。

2 结果

2.1 骨关节炎中 DEGs 的鉴定

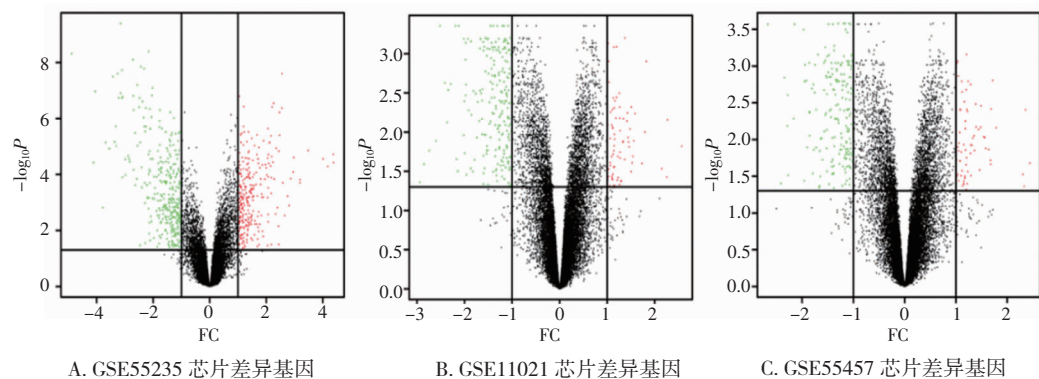
使用调整 $P < 0.05$ 和 $|\log_2 \text{FC}| > 2$ 对所有微阵列数据集进行标准化并通过 limma 包筛选。GSE55235 芯片中有 420 个 DEGs,包括 196 个上调基因和 224 个下调基因。从 GSE12021 中筛选出 211 个 DEGs,包括 59 个上调基因和 152 个下调基因。GSE55457 芯片中筛选出 197 个 DEGs,包括 59 个上调基因和 138 个下调基因。每个微阵列的 DEGs 显示在图 1 中,并且前 100 个 DEGs 显示在簇热图 2 中。对 3 个微阵列数据集进行综合分析,从中获得 67 个 DEGs,包括 18 个上调基因和 49 个下调基因 (图 3、表 2)。

2.2 GO 功能丰富分析

使用 DAVID 在线数据库进行 DEGs 的生物学注释。功能富集分析分以下 3 组:BP 组、CC 组和 MF 组 (图 4)。在 BP 组中,DEGs 主要富集细胞增殖、细胞黏附、机械刺激反应、成

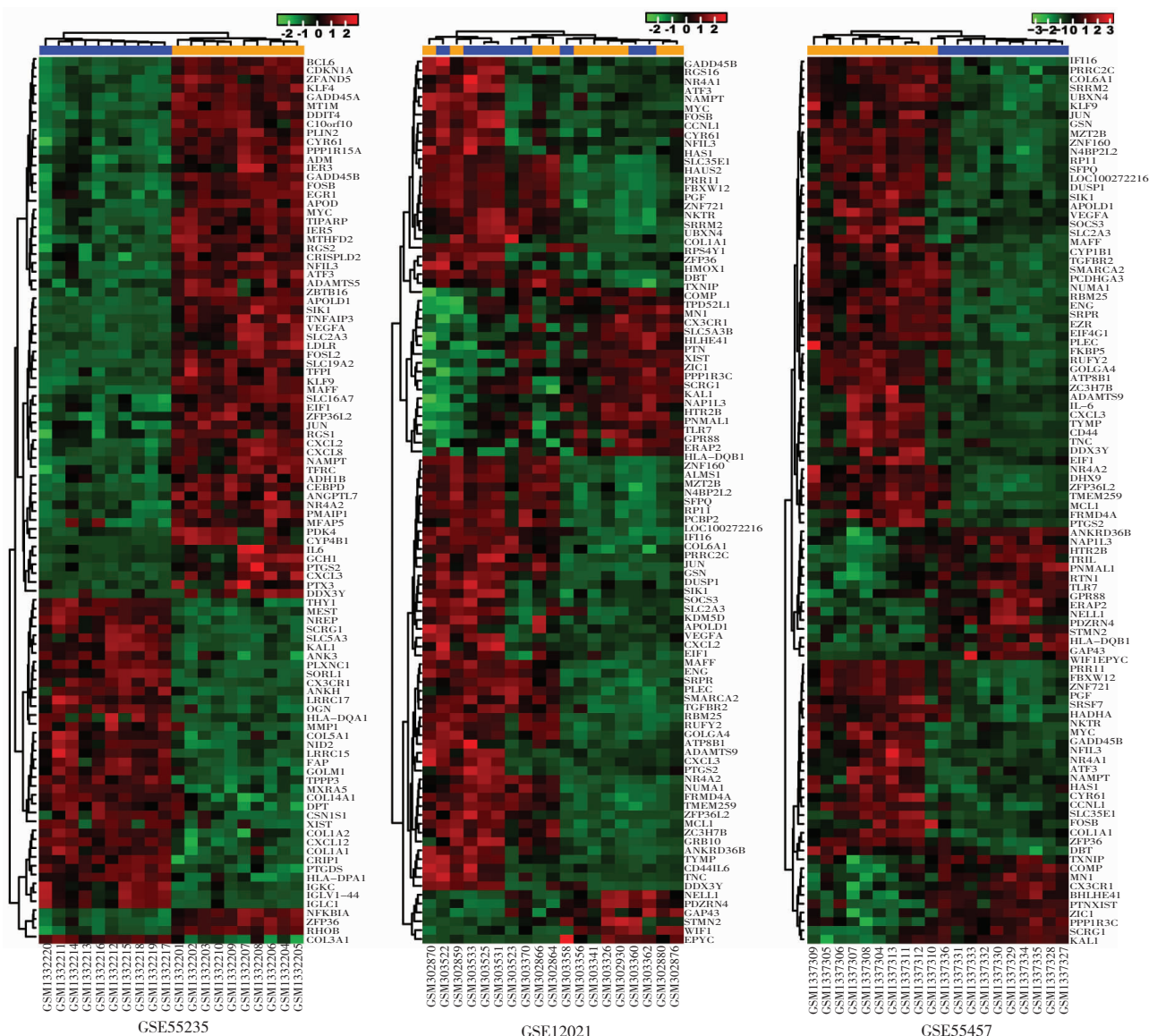
表 1 GEO 中 OA 芯片详细数据

文献	样本	差异基因	平台	正常	OA
Woetzel 等 (2014)	20	GSE55235	GPL96	10	10
Huber 等 (2008)	19	GSE12021	GPL96	9	10
Woetzel 等 (2014)	20	GSE55457	GPL96	10	10



注:红点表示上调基因,绿点表示下调基因,黑点表示没有显著差异的基因;FC 是倍数变化

图 1 火山图显示 3 个 OA 微阵列中的 DEGs



A. GSE55235 前 100 差异基因热图

B. GSE12021 前 100 差异基因热图

C. GSE55457 前 100 差异基因热图

注:绿色表示下调 DEGs,红色表示上调 DEGs,黑色表示基因表达没有显著变化

图 2 前 100 差异基因的层次聚类热图

骨细胞分化和细胞对钙离子反应的调节。在 CC 组中,DEGs 主要富集在细胞外空间、内质网膜和细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶全酶复合物中。在 MF 组中,DEGs 主要富含蛋白质二聚化活性、生长因子活性、转录因子活性、RNA 聚合酶 II 核心启动子近端区序列特异性结合、蛋白质异二聚化活性、过氧化物酶活性、MAP 激酶酪氨酸/丝氨酸/苏氨酸磷酸酶活性。

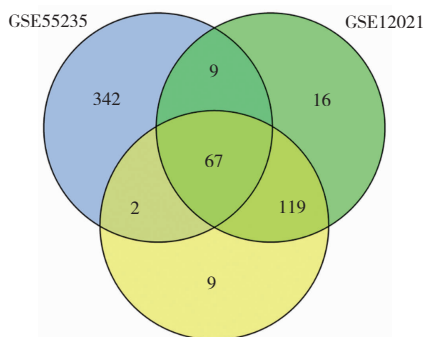


图 3 3 个芯片数据中共同的 67 个 DEGs

表 2 3 个芯片中重叠的 DEGs

差异基因	基因名
上调基因	<i>COL1A1</i> , <i>EIF1</i> , <i>EPHA3</i> , <i>HAS1</i> , <i>HLA-DQB1</i> , <i>IFT1</i> , <i>JUNB</i> , <i>KAL1</i> , <i>NAPIL3</i> , <i>NDUFA4L2</i> , <i>NR4A2</i> , <i>PTGS2</i> , <i>PTN</i> , <i>RTN1</i> , <i>STC1</i> , <i>NC</i> , <i>TRA2A</i> , <i>VEGFA</i>
下调基因	<i>ANGPTL7</i> , <i>APOLD1</i> , <i>ATF3</i> , <i>BLNK</i> , <i>BTG2</i> , <i>CCNL1</i> , <i>CD44</i> , <i>CDKN1A</i> , <i>CEBPA</i> , <i>CX3CR1</i> , <i>CXCL3</i> , <i>CYR61</i> , <i>DDX3Y</i> , <i>DPT</i> , <i>DUSP1</i> , <i>DUSP5</i> , <i>EPYC</i> , <i>FKBP5</i> , <i>FOSB</i> , <i>GADD45B</i> , <i>GRB10</i> , <i>IL11RA</i> , <i>IL1R1</i> , <i>IL-6</i> , <i>INHBB</i> , <i>JUN</i> , <i>KDELR3</i> , <i>KLF9</i> , <i>KTN1</i> , <i>MAFF</i> , <i>MCL1</i> , <i>MYC</i> , <i>NAMPT</i> , <i>NELL1</i> , <i>NFIL3</i> , <i>NR4A1</i> , <i>PTGS1</i> , <i>SCRGI</i> , <i>SIK1</i> , <i>SLC2A3</i> , <i>SLC5A3</i> , <i>SOC3</i> , <i>SRRM2</i> , <i>SRSF7</i> , <i>TLR7</i> , <i>TPD52L1</i> , <i>TRIM14</i> , <i>ZFP36</i> , <i>ZFP36L2</i>

2.3 KEGG 途径富集分析

通过 DAVID 在线数据库进行 DEGs 的 KEGG 信号通路富集分析。DEGs 主要参与破骨细胞分化、TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用和 Jak-STAT 信号通路。前 10 条途径如图 5 所示。

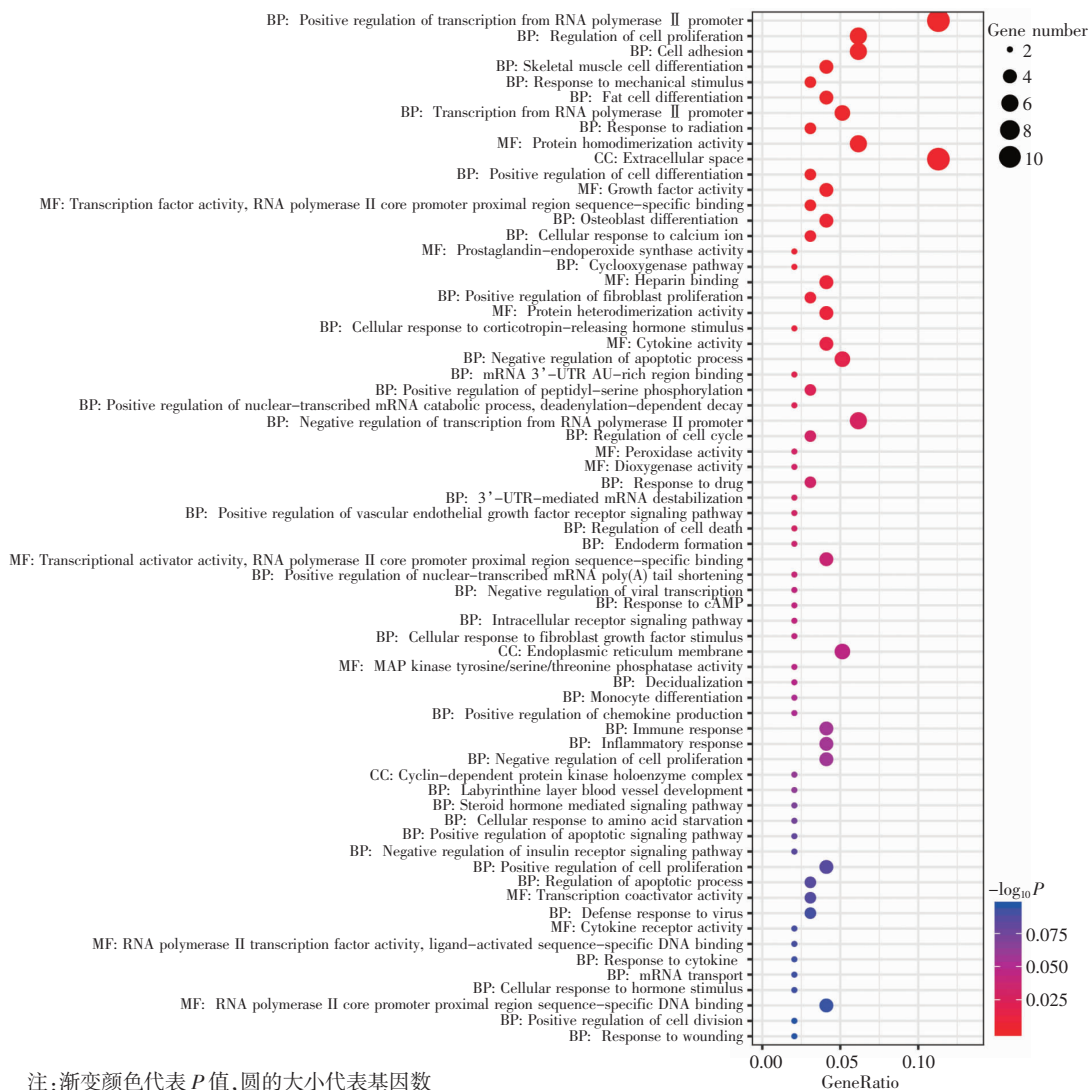


图 4 GO 功能富集分析

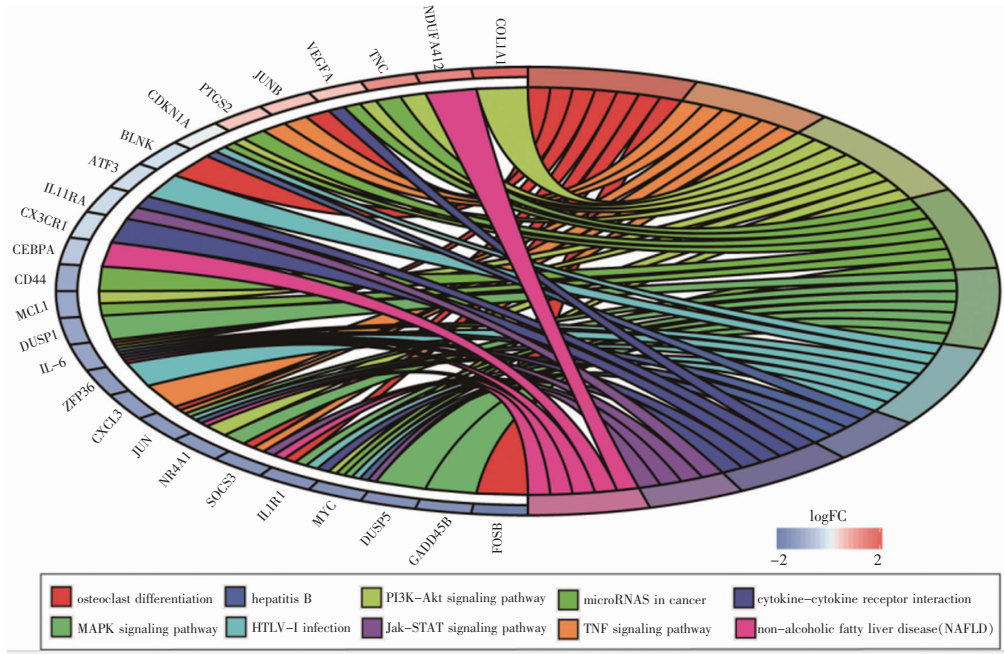


图 5 KEGG 通路分析中各通路上的差异基因

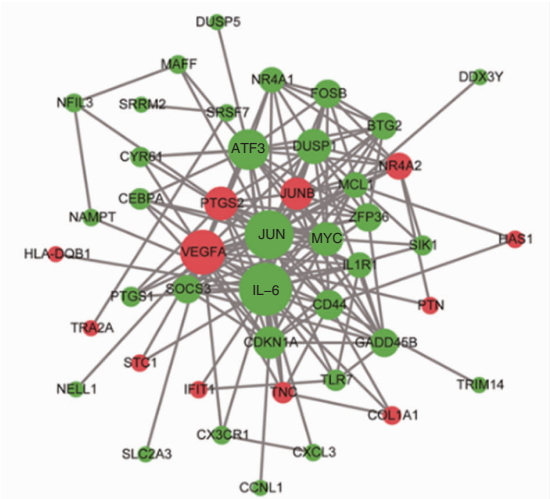
2.4 PPI 网络分析

基于 STRING 在线数据库,PPI 网络由 Cytoscape 软件构建,包含 45 个节点和 159 个边缘(图 6)。根据连接程度鉴定前 10 个中枢基因,包括白细胞介素-6(interleukin-6,IL-6)、JUN、血管内皮生长因子 A(vascular endothelial growth factor A, VEGFA)、转录激活因子 3(activating transcription factor 3, ATF3)、双特异性磷酸酶 1(dual-specificity phosphatase 1, DUSP1)、MYC、前列腺素内过氧化物合酶 2(prostaglandin-endoperoxide synthase 2,PTGS2)、JUNB、细胞周期蛋白依赖激酶抑制因子 1A(cyclindependent kinase inhibitor 1A,CDKN1A)和分化抗原 44(cluster of differentiation,CD44)。在这些基因中,IL-6 显示出最高的节点度,即 28。

2.5 筛选潜在的治疗药物

连通图中 score 是 cMap 数据库中的一个重要参数,在-1~1 的范围内。阳性值表示该药物具有促进疾病的作用,阴性值表示该药物具有抑制疾病的作用。score 的绝对值越大,相关性越大。将重叠的 DEGs 映射到 cMap 数据库以筛选出负相关的小分子化合物。评分中排名前 10 位的小分子化合物

物见表 3。这些化合物可能是对 OA 基因表达具有相反作用的干扰分子。



注:红色代表上调基因,绿色代表下调基因;节点的大小代表度

图 6 用 DEGs 构建的 PPI 网络

表 3 可能对抗 OA 的前 10 种小分子药物

名称	评分	n	富集分数	P	特异度
雌二醇	-1.000	37	-0.153	-	-
吉非贝齐	-0.962	5	-0.392	0.331 09	0.426 3
双硫仑	-0.923	5	-0.740	0.002 42	0.028 8
氨溴索	-0.903	4	-0.435	0.330 22	0.540 9
氟哌啶醇	-0.900	32	-0.176	-	-
阿氯米松	-0.884	4	-0.490	0.201 73	0.201 3
白毛茛分碱	-0.876	5	-0.461	-	-
来氟米特	-0.871	4	-0.397	-	-
泼尼卡酯	-0.868	3	-0.649	0.086 39	0.025 6
邻甲苯海拉明	-0.859	6	0.259	-	-

3 讨论

OA是最常见的慢性退行性关节病,在所有关节中膝关节受累最严重。近年来,我国 60 岁以上的人群 OA 发病率约为 60%。以前对 OA 的研究主要集中在软骨和软骨下骨,忽略了滑膜组织在 OA 发病机制中的作用。研究表明,滑膜炎是关节炎的重要诱因^[9]。因此,研究滑膜发育的详细分子机制对研究 OA 的发展具有重要意义。

微阵列和高通量测序技术可以预测 OA 治疗的潜在靶基因,然而仍没有有效的治疗措施,因为大多数研究集中在单个遗传事件或单个队列研究。本研究整合了来自不同组的 3 项队列研究,并通过 R 软件和生物信息学进行分析。确定了 67 个常见变化的 DEGs,包括 18 个上调 DEGs 和 49 个下调 DEGs。

为了更好地了解 DEGs,本研究进行了 GO 功能富集分析和 KEGG 通路分析。结果表明,DEGs 主要富集生物学过程,包括细胞增殖调节、凋亡过程的负调节、细胞分化的正调节、成骨细胞分化、对 cAMP 的反应、趋化因子产生的正调节、免疫应答、炎症反应和细胞因子反应。OA 的主要特征是由细胞外基质的合成代谢和分解代谢紊乱引起的细胞外基质逐渐减少^[10]。由于成骨细胞分化紊乱,OA 早期软骨下骨发生重塑增加,骨赘形成^[11]。对 cAMP 的反应,趋化因子产生的正调节、免疫应答、炎症反应和对细胞因子的反应是 OA 的一些机制^[12-13],这些活动的不平衡促进了 OA 的发生和进展。此外,DEGs 富集的 KEGG 途径包括破骨细胞分化、TNF 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路和 Jak-STAT 信号通路。破骨细胞谱系是 OA 小鼠膝关节负荷的高反应性^[14]。研究表明,OA 患者的血浆滑膜、软骨和软骨下骨中 TNF- α 升高^[15-16]。Lai Y 等^[17]发现 TNF 信号通路的激活可以促进 OA 中 ADAMTS-7 的表达。Chowdhury TT 等^[18]发现 MAPKs 信号通路是介导骨关节炎软骨损伤最重要的信号转导系统。PI3K-Akt 是骨硬化过程中重要的信号通路,激活 PI3K 促进 Akt 活化,Akt 通过 AFX/FOXO4 抑制破骨细胞凋亡,促进破骨细胞蛋白的更新,维持正常细胞状态^[20]。Maruotti N 等^[20]发现破骨细胞可能是关节破坏和骨吸收的关键原因。Jak-STAT 信号通路可以通

过调节细胞因子表达来影响基质金属蛋白酶^[21],而基质金属蛋白酶的增加通常导致软骨退化。

为了研究 OA 的分子机制,进行了 DEGs 的 PPI 网络。按程度排名前 5 位的基因是 IL-6、JUN、VEGFA、ATF3 和 DUSP1。Degree 通常与基因的重要性正相关。IL-6 由淋巴和非淋巴细胞分泌,如 B 细胞、T 细胞、单核细胞和一些肿瘤细胞。既往研究表明,IL-6 缺乏的小鼠体现出比健康小鼠更多的退行性变化^[22]。IL-6 可刺激 II 型胶原的产生并抑制 MMP 的产生^[23]。JUN 是激活蛋白-1 (activator protein-1, AP-1) 的亚基,但 AP-1 在软骨细胞中的作用还有待进一步研究。有证据表明,IL-1 通过激活 Jun/fos 异二聚体诱导 MMP-13 产生^[24]。Ye Z 等^[25]发现 JUN 基因在调节软骨细胞凋亡中起重要作用。VEGFA 是血管生成生长因子家族的成员,并对血管内皮的增殖、存活和血管通透性具有强烈影响。VEGF 在骨发育中起重要作用,VEGF 水平升高与 OA 进展相关^[26]。ATF3、ATF/cAMP 反应元件结合蛋白家族在关节疾病中尚未得到很好的研究。ATF3 参与细胞增殖和分化的调节,ATF3 可通过调节软骨细胞中炎症细胞因子的分泌来影响软骨细胞中 MMP-13 的表达,从而影响 OA 的进展^[27]。DUSP1 是磷酸酶家族中发现的第一个催化活性磷酸酶,可以抑制 ERK、P38MAPK 和 JNK 途径。Peng HZ 等^[28]发现,DUSP1 通过抑制 MAPK 途径的激活并降低 OA 中 MMP-13 和 COX-2 的表达而对 OA 具有保护作用。

此外,本研究通过 cMap 筛选出了用于治疗 OA 的小分子药物。雌二醇是一种绝对值最高的小分子药物。研究表明,雌二醇可以减少软骨的退化^[29]。来氟米特是一种新型免疫调节剂,可以抑制活化的人滑膜组织培养物中 IL-1 β 、TNF- α 、NO 和 MMP-3 的产生^[30]。它们可能成为治疗 OA 的小分子药物。

参考文献

- [1] Hosseininia S, Önerfjord P, Dahlberg L, et al. Targeted proteomics of hip articular cartilage in OA and fracture patients[J]. J Orthop Res, 2019, 37(1): 131-135.
- [2] 赵俊,董凯峰,刘杰,等. 膝关节镜下清理术联合中药热敷治疗骨性关节炎的临床疗效分析[J]. 重庆医科大学学报, 2019, 44(6): 774-779.
- [3] Sinusas K. Osteoarthritis: diagnosis and treatment[J]. Am Fam

- Physician, 2012, 85(1): 49–56.
- [4] 田雪秋, 牟开今, 刘丽娟, 等. 骨关节炎相关危险因素研究进展[J]. 中国社区医师, 2016, 32(15): 14–15.
- [5] Yau MS, Yergesarmstrong LM, Liu Y, et al. Genome-wide association study of radiographic knee osteoarthritis in north american caucasians[J]. Arthritis Rheumatol, 2017, 69(2): 343–351.
- [6] Petryszak R, Burdett T, Fiorelli B, et al. Expression Atlas update: a database of gene and transcript expression from microarray- and sequencing-based functional genomics experiments[J]. Nucleic Acids Res, 2014, 42(Database issue): D926–D932.
- [7] Cui S, Zhang X, Hai S, et al. Molecular mechanisms of osteoarthritis using gene microarrays[J]. Acta Histochemica, 2015, 117(1): 62–68.
- [8] Lamb J, Crawford ED, Peck D, et al. The connectivity map: using gene-expression signatures to connect small molecules, genes, and disease[J]. Science, 2006, 313(5795): 1929–1935.
- [9] 易南星, 梁倩倩, 张伟强, 等. 骨性关节炎相关滑膜炎研究进展[J]. 昆明医科大学学报, 2019, 40(3): 136–139.
- [10] Komori T. Cell death in chondrocytes, osteoblasts, and osteocytes[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(12): 2045.
- [11] 施伟梅, 徐波, 曾越, 等. 骨关节炎相关骨赘形成的分子信号通路研究进展[J]. 赣南医学院学报, 2018, 38(9): 28–36.
- [12] Kandahari AM, Yang X, Dighe AS, et al. Recognition of immune response for the early diagnosis and treatment of osteoarthritis[J]. J Immunol Res, 2015, 2015: 192415.
- [13] Long DL, Ulici V, Chubinskaya S, et al. Heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor (HB-EGF) is increased in osteoarthritis and regulates chondrocyte catabolic and anabolic activities[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2015, 23(9): 1523–1531.
- [14] Li X, Yang J, Liu D, et al. Knee loading inhibits osteoclast lineage in a mouse model of osteoarthritis[J]. Sci Rep, 2016, 6(1): 24668.
- [15] Xue J, Wang J, Liu Q, et al. Tumor necrosis factor- α induces ADAMTS-4 expression in human osteoarthritis chondrocytes[J]. Mol Med Rep, 2013, 8(6): 1755–1760.
- [16] Wang T, He C. Pro-inflammatory cytokines: the link between obesity and osteoarthritis[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2018, 44: 38–50.
- [17] Lai Y, Bai X, Zhao Y, et al. ADAMTS-7 forms a positive feedback loop with TNF- α in the pathogenesis of osteoarthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2014, 73(8): 1575–1584.
- [18] Chowdhury TT, Salter D, Bader DL, et al. Signal transduction pathways involving p38 MAPK, JNK, NF- κ B and AP-1 influences the response of chondrocytes cultured in agarose constructs to IL-1 β and dynamic compression[J]. Inflamm Res, 2008, 57(7): 306–313.
- [19] Chen L, Huang M, Tan J, et al. PI3K/Akt pathway involvement in the osteogenic effects of osteoclast culture supernatants on preosteoblast cells[J]. Tissue Eng Part A, 2013, 19(19–20): 2226–2232.
- [20] Maruotti N, Grano M, Colucci S, et al. Osteoclastogenesis and arthritis[J]. Clin Exp Med, 2011, 11(3): 137–145.
- [21] Malemud CJ. Negative regulators of JAK/STAT signaling in rheumatoid arthritis and osteoarthritis[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(3): 484.
- [22] de Hoo ASK, van de Loo FAJ, Bennink MB, et al. Male IL-6 gene knock out mice developed more advanced osteoarthritis upon aging[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2005, 13(1): 66–73.
- [23] Poree B, Kypriotou M, Chadjichristos C, et al. Interleukin-6 (IL-6) and/or soluble IL-6 receptor down-regulation of human type ii collagen gene expression in articular chondrocytes requires a decrease of Sp1·Sp3 ratio and of the binding activity of both factors to the COL2A1 promoter[J]. J Biol Chem, 2008, 283(8): 4850–4865.
- [24] Schmucker AC, Wright JB, Cole MD, et al. Distal interleukin-1 β (IL-1 β) response element of human matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) binds activator protein 1 (AP-1) transcription factors and regulates gene expression[J]. J Biol Chem, 2012, 287(2): 1189–1197.
- [25] Ye Z, Chen Y, Zhang R, et al. c-Jun N-terminal kinase- c-Jun pathway transactivates Bim to promote osteoarthritis[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2014, 92(2): 132–139.
- [26] Hamilton JL, Nagao M, Levine BR, et al. Targeting VEGF and its receptors for the treatment of osteoarthritis and associated pain[J]. J Bone Miner Res, 2016, 31(5): 911–924.
- [27] Chan CM, Macdonald C, Litherland GJ, et al. Cytokine-induced MMP13 expression in human chondrocytes is dependent on activating transcription factor 3 (ATF3) regulation[J]. J Biol Chem, 2017, 292(5): 1625–1636.
- [28] Peng HZ, Yun Z, Wang W, et al. Dual specificity phosphatase 1 has a protective role in osteoarthritis fibroblast-like synoviocytes via inhibition of the MAPK signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(6): 8441–8447.
- [29] 黄捷, 薄占东, 刘刚, 等. 早期膝骨关节炎患者血清雌二醇和睾酮水平与病变程度的关系[J]. 中国组织工程研究, 2018, 22(36): 5760–5765.
- [30] Elkayam O, Yaron I, Shirazi I, et al. Active leflunomide metabolite inhibits interleukin 1 β , tumour necrosis factor α , nitric oxide, and metalloproteinase-3 production in activated human synovial tissue cultures[J]. Ann Rheum Dis, 2003, 62(5): 440–443.

(责任编辑: 冉明会)