

· 综述 ·

白细胞介素在椎间盘退变中的作用[△]

薛忠书¹, 张小伟², 陈宁杰^{2*}

(1. 潍坊医学院, 山东潍坊 261042; 2. 淄博市中心医院骨科, 山东淄博 255036)

摘要: 椎间盘退变引起的下腰痛严重影响着老年患者的健康, 同样也给社会和家庭带来巨大的负担。椎间盘退变从18岁开始, 由于年龄、生物力学、生物化学、自身免疫炎症反应和遗传易感等因素的影响, 加速椎间盘退变的过程。椎间盘退变是一个序贯、级联发生的病理过程, 从椎间盘细胞微环境的改变开始, 发展为椎间盘结构和功能的改变, 其主要病理特征是炎症细胞因子, 如白细胞介素(interleukins, ILs)的释放, 促分解代谢酶的表达增加, 细胞外基质降解, 椎间盘细胞凋亡等。在椎间盘退变过程中白细胞介素起到了重要作用, 本文将对白细胞介素在椎间盘退变中的作用进行综述。

关键词: 白细胞介素, 椎间盘退变, 机制, 信号通路

中图分类号: R318 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478(2023)04-0341-05

Role of interleukin in intervertebral disc degeneration // XUE Zhong-shu¹, ZHANG Xiao-wei², CHEN Ning-jie². 1. Weifang Medical University, Weifang 261042, China; 2. Zibo Central Hospital, Zibo 255036, China

Abstract: Low back pain caused by intervertebral disc degeneration seriously affects the health of elderly patients, but also brings a huge burden to society and family. Intervertebral disc degeneration begins at age 18, and is accelerated by the age, with biomechanics, biochemistry, autoimmune inflammatory response and genetic predisposition factors. Intervertebral disc degeneration is a sequential, cascade pathological process that starts with changes in the microenvironment of intervertebral disc cells and progresses to changes in intervertebral disc structure and function. A major pathological feature is the release of inflammatory cytokines such as interleukin, which increased expression of catabolic enzymes, degradation of extracellular matrix, and intervertebral disc cell apoptosis. As interleukins (ILs) plays an important role in intervertebral disc degeneration, this article reviews the effect of interleukin on intervertebral disc degeneration.

Key words: interleukin, intervertebral disc degeneration, mechanism, signaling pathway

椎间盘是位于上下两个椎体之间的软组织结构, 由髓核(nucleus pulposus, NP)、纤维环(annulus fibrosus, AF)和软骨终板(cartilage endplate, CEP)组成^[1]。椎间盘在缓冲压力、保持脊柱的稳定性、维持脊柱的生理曲度以及脊柱的柔韧性等方面发挥着重要作用。椎间盘退变是导致下腰痛的主要致病因素, 严重影响健康和生活质量^[2], 因此研究椎间盘退变的致病机制至关重要, 本文将对白细胞介素(interleukins, ILs)在椎间盘退变中的作用机制进行综述。

1 IL-1 β

IL-1家族由11个成员组成, 其中IL-1 β 与椎间盘退变密切相关^[3]。在正常的椎间盘细胞中, IL-1

与其抑制剂(IL-1Ra)之间存在平衡, 从而保持了椎间盘局部微环境的稳态。在退变的椎间盘细胞中IL-1 β 会导致促进基质降解酶的分泌增多, 进而加速椎间盘的退变^[4]。IL-1 β 同时能够刺激椎间盘细胞产生大量趋化因子, 包括单核细胞趋化蛋白(monocyte chemotactic protein, MCP)-1, MCP-3、MCP-4等^[5], 从而促进外周血中巨噬细胞、中性粒细胞和T淋巴细胞聚集、迁移至退变的椎间盘组织中, 促进炎症细胞因子的释放, 加速椎间盘的退变。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)和I型血小板结合蛋白基序的解聚蛋白样金属蛋白酶(a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motifs, ADAMTS)是导致椎间盘细胞外基质(extracellular matrix, ECM)分解的主要酶。IL-1 β 能够促进MMP-

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2023.04.11

[△]基金项目: 山东省自然科学基金青年项目(编号:ZR2020QH281)

作者简介: 薛忠书, 在读硕士, 研究方向: 骨关节炎、椎间盘退变、骨肿瘤, (电话)17560306358, (电子信箱)xuezhongshu@163.com

* 通信作者: 陈宁杰, (电话)18678185836, (电子信箱)chenningjiemd@163.com

1、-2、-3、-4、-13、-14、ADAMTS-4、-5等的分泌,并减少聚集蛋白聚糖(Aggregan)和II型胶原(Collagen-II)的表达水平,从而导致椎间盘退变^[6]。

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是需氧细胞在代谢过程中产生的一系列活性氧簇,包括:超氧自由基(O₂⁻)、过氧化氢(H₂O₂)等。IL-1 β 可引起NP细胞中ROS的异常累积,从而加剧椎间盘的氧化应激损伤,引起线粒体的功能障碍,进而导致NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)炎症小体的释放增加,最终形成IL-1 β -NLRP3炎症小体的正反馈环,进一步加剧椎间盘的炎症反应和氧化应激损伤,从而导致椎间盘退变^[7]。

研究表明IL-1 β 主要通过激活NF- κ B和MAPK信号通路引起椎间盘退变^[8]。NF- κ B信号通路是调节MMPs、环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)表达的最关键的转录因子之一,并且NF- κ B信号通路的激活能够导致椎间盘的氧化应激损伤及线粒体功能障碍,从而导致椎间盘退变的发生^[9]。研究表明IL-1 β 还可以通过激活MAPK信号通路导致椎间盘退变过程中的炎症反应和细胞凋亡^[10]。

2 IL-2

死亡受体通路是由细胞表面受体(Fas)的结合而启动的,后者激活了含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(cysteiny aspartate specific proteinase, Caspase),主要是Caspase-8,而Caspase-8又激活了Caspase-3^[11]。实验研究表明,IL-2能够诱导人NP细胞中的Fas受体蛋白的表达,增强Caspase-3和Caspase-8的活性,提示IL-2可能通过死亡受体途径导致NP细胞的凋亡^[12]。同时IL-2处理NP细胞后会导致ADAMTS-4、5, MMP-3、13的表达水平明显升高, Collagen-II表达水平降低^[13]。IL-2能够导致磷酸化的p38显著上调,因此IL-2能够激活NP细胞中的p38-MAPK通路导致椎间盘的退变^[13]。

3 IL-6

研究表明,在退变的椎间盘组织中发现IL-6水平升高,提示IL-6参与椎间盘的退变^[14]。IL-6通过促进ECM的降解,在椎间盘退变的发生发展中起重

要的作用。IL-6通过增加MMPs的表达,激活NP细胞和AF细胞中的信号转导和转录激活因子3(signal transducers and activators of transcription 3, STAT3),诱导椎间盘退变的发生^[14]。IL-6能够引起 β -catenin信号通路的激活, β -catenin激活后会引起MMP-13及ADAMTS-5的表达增加,从而引起Aggregan及Collagen-II的降解^[15]。研究发现YES相关蛋白1(yes-associated protein 1, YAP1)过表达显著降低了NP细胞中SOX-9、Aggregan及Collagen-II的表达,而MMP-13的表达却明显增加^[15]。实验研究表明IL-6处理NP细胞后可同时提高YAP1和 β -catenin蛋白水平,因此IL-6可以通过YAP1/ β -catenin通路导致椎间盘退变^[15]。

4 IL-9

实验研究证明,IL-9在退变的椎间盘组织中表达水平显著升高,而且IL-9在椎间盘退变患者的血液中的表达同样升高,进一步证明了IL-9参与了椎间盘的退变过程^[16]。IL-9能够促进肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、前列腺素E₂(prostaglandin E₂, PGE₂)的升高。在体外实验过程中发现,用IL-9刺激NP细胞后会引起TNF- α 表达水平升高,两者存在时间剂量关系,同样发现TNF- α 也会引起IL-9的表达上调,这说明TNF- α 和IL-9之间存在正反馈调节环^[16]。用IL-9刺激NP细胞会导致PGE₂的显著升高,两者存在时间剂量关系^[16]。先前研究的结果表明IL-9信号通路涉及JAK1、JAK3、STAT1、STAT3和STAT5信号通路^[17],但在椎间盘退变过程中的信号通路还没有得到进一步证实。

5 IL-17

IL-17主要由辅助性T细胞(T helper cell, Th)17产生,在银屑病、类风湿性关节炎、克罗恩病、椎间盘退变等许多慢性炎症相关疾病中发挥着关键作用。研究证明,在人体退变的椎间盘内发现IL-17表达水平明显增高^[18]。IL-17通过与 γ 干扰素(interferon γ , IFN- γ)和TNF- α 的协同作用,进一步刺激退变的椎间盘细胞释放炎症细胞因子。体内及体外实验证明CCL20/CCR6趋化系统可将Th17细胞聚集、迁移至退变的椎间盘组织中,进一步介导椎间盘局部炎症反应^[18]。

实验研究证明, IL-17 通过激活 NP 细胞的 JAK/STAT 途径上调 VEGF, 加剧椎间盘退变^[19]。IL-17 能够引起 NF- κ B 信号通路的激活, 导致 MMP-13 的上调以及 Aggrecan 和 Collagen-II 的降解。IL-17 能够促进 TNF- α 的释放, 而 TNF- α 通过激活 NF- κ B 通路, 单独或与 IL-17 联合刺激 ADAMTS-7 的产生^[20]。同时 IL-17 能够通过 p38/c-Fos 和 JNK/c-Jun 信号通路在人 NP 细胞中介导炎症反应^[21]。

6 IL-18

实验研究表明, 在椎间盘突出组患者血清中 IL-18 水平明显高于正常组, 并且随着椎间盘退变的严重程度而升高。体外实验表明, IL-18 作用 NP 和 AF 细胞后, Aggrecan、Collagen-II 和 SOX-6 的转录水平降低, MMP-13 表达水平升高。这些结果表明, IL-18 通过抑制 Aggrecan、Collagen-II 和 SOX-6 的表达影响 NP 和 AF 细胞的生物合成, 导致 ECM 的降解, 进而引起椎间盘的退变^[22]。最近一项研究结果表明, 椎间盘退变患者和小鼠椎间盘退变模型的 NP 组织中 IL-18 的表达水平显著升高, 通过抑制 IL-18 的表达能够显著增加 Aggrecan 和 Collagen-II 的表达水平。IL-18 能够增加促凋亡蛋白 Caspase (Caspase-3、8、9、12、cleaved-Caspase-3、8、9、12) 和 Bax 的表达水平, 并且减少抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达导致 NP 细胞的凋亡^[23]。

7 IL-20

研究发现随着椎间盘退变的加重, IL-20 的表达水平随之增加, 而 Collagen-II 含量逐渐下降, 提示 IL-20 与椎间盘退变程度显著相关^[24]。在椎间盘退变过程中, IL-20 可促进血管生长进入椎间盘裂隙, 促进 Aggrecan 和 Collagen-II 降解, 加重椎间盘退变^[25]。IL-20 能够引起 IL-1、IL-6、VEGF、MMP-3、MCP-1 的表达增加^[25]。研究发现在突出的椎间盘组织中, IL-1 能够进一步增加 IL-20 的表达, 并与 IL-20 协同刺激多种促炎细胞因子的分泌^[25]。先前研究显示 IL-20 通过促进 VEGF 的生成直接或间接促进血管生成^[25]。另有研究发现 IL-20 单独诱导了椎间盘细胞中 VEGF 的表达, 上调促进血管生成的炎症细胞因子 IL-8。因此, IL-20 不仅参与炎症反应, 而且还参与椎间盘新生血管的调控。

8 IL-21

体内和体外的研究结果表明, IL-21 表达增加与椎间盘退变程度有关^[26]。实验研究表明 IL-21 可能是通过促进 TNF- α 分泌来增加椎间盘组织中 ADAMTS-7 表达, 从而加重椎间盘的退变。研究结果表明人和大鼠退变的 NP 组织中 TNF- α 的表达均高于正常 NP 组织, 与退变的椎间盘组织中 IL-21 的表达呈正相关, 提示 IL-21 可能是诱导 TNF- α 表达的炎症细胞因子^[26]。有学者认为 IL-21 可以通过激活 JAK-STAT 信号通路导致椎间盘退变的发生^[27]。

9 IL-4

IL-4 是一种抗炎细胞因子, 能够诱导 Th2 分泌抗炎细胞因子 IL-4、IL-5 和 IL-10^[28]。研究发现, 与无创伤死亡的尸检样本的椎间盘组织相比, 椎间盘退变患者的椎间盘组织中 IL-4 的表达水平更高^[29]。IL-4 会引起 CCL22 和 IL-6 的显著增加, 但是 IL-4 能够降低 IL-12 和 IL-8 的 mRNA 表达水平。IL-4 能够抑制 LPS 诱导的椎间盘细胞促炎细胞因子 (IL-6、IL-8、iNOS) 的分泌^[30]。

10 IL-10

IL-10 是一种重要的抗炎细胞因子, 通过调节各种免疫细胞功能, 减少促炎细胞因子的分泌、参与抗原呈递和异常免疫反应, 增强免疫耐受。IL-10 在椎间盘退变患者的血清和椎间盘组织中表达升高^[31]。IL-10 通过减少 IL-1 β 及 TNF- α 的表达水平缓解椎间盘的炎症反应^[32]。IL-10 显著缓解由 IL-1 β 导致的 NP 细胞 Collagen-II 及 SOX-9 的降低, 并且在大鼠椎间盘退变模型中发现, IL-10 治疗后能够维持椎间盘组织结构。体内及体外实验结果表明, IL-10 显著降低了 p38 磷酸化水平并抑制了 p38-MAPK 信号通路的激活以延缓椎间盘退变^[33]。

11 IL-33

椎间盘退变患者的 NP 组织中, IL-33 的 mRNA 和蛋白表达水平随着椎间盘退变程度的增加而逐渐降低, 并且正常的 NP 细胞中 IL-33 的蛋白表达水平高于退变的 NP 细胞^[34]。IL-33 显著上调缺氧诱导因子

1 α (hypoxia-inducible factor 1- α , HIF-1 α) 的 mRNA 和蛋白质表达, HIF-1 α 先前已被证明可以促进 ECM 的合成, 研究结果表明 IL-33 可以促进 HIF-1 α 的转录活性, 并且显著增加了 NP 细胞中 Collagen-II 和 Aggrecan 的表达^[34]。IL-33 的过表达能够减少退变的 NP 细胞中 MMP-3、13 及 ADAMTS-4、5 的释放, 同时 IL-33 过表达显著降低了促凋亡蛋白 Caspase-3 的表达, 增加了抑制凋亡蛋白 Bcl-2 的表达^[34]。

本文分析了 ILs 家族在椎间盘退变中的作用机制, 主要通过引起炎症反应, 促进 MMPs 和 ADAMTSs 的释放, 引起椎间盘 ECM 的降解, 同时导致椎间盘细胞的凋亡, 从而加剧了椎间盘退变的病理过程。ILs 家族中也有抑制椎间盘退变的细胞因子, 在椎间盘退变过程中发挥保护作用。椎间盘退变是复杂的病理过程, 炎症细胞因子之间既有协同作用, 也有相互拮抗的作用, 需要进一步探究参与椎间盘退变的炎症细胞因子, 总结它们之间的相互作用机制, 从而实现精准治疗的目的。

参考文献

- [1] Kamali A, Ziadlou R, Lang G, et al. Small molecule-based treatment approaches for intervertebral disc degeneration: current options and future directions [J]. *Theranostics*, 2021, 11 (1): 27-47.
- [2] 李爽, 徐宝山, 马信龙. 经皮椎间盘骨水泥成形术的研究进展 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2021, 29 (21): 1961-1964.
- [3] 杨召, 苑珍珠. 炎性因子在中医药治疗椎间盘退变中的机制研究 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2021, 29 (24): 2246-2248.
- [4] Wang L, Gu Y, Zhao H, et al. Dioscin attenuates interleukin 1beta (IL-1beta)-induced catabolism and apoptosis via modulating the toll-like receptor 4 (TLR4)/nuclear factor kappa B (NF-kappaB) signaling in human nucleus pulposus cells [J]. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e923386.
- [5] Kawaguchi S, Yamashita T, Katahira G, et al. Chemokine profile of herniated intervertebral discs infiltrated with monocytes and macrophages [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2002, 27 (14): 1511-1516.
- [6] Wang Y, Che M, Xin J, et al. The role of IL-1beta and TNF-alpha in intervertebral disc degeneration [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 131: 110660.
- [7] Chao-Yang G, Peng C, Hai-Hong Z. Roles of NLRP3 inflammasome in intervertebral disc degeneration [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2021, 29 (6): 793-801.
- [8] 李瑶, 孙中仪, 戴健, 等. 椎间盘退变 IL-1 β 激活 NF- κ B 信号通路增强 ADAMTS-4 的表达 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2021, 29 (23): 2177-2181.
- [9] Zhang GZ, Liu MQ, Chen HW, et al. NF-kappaB signalling pathways in nucleus pulposus cell function and intervertebral disc degeneration [J]. *Cell Prolif*, 2021, 54 (7): e13057.
- [10] Kang H, Dong Y, Peng R, et al. Inhibition of IRE1 suppresses the catabolic effect of IL-1beta on nucleus pulposus cell and prevents intervertebral disc degeneration in vivo [J]. *Biochem Pharmacol*, 2022, 197: 114932.
- [11] Yurube T, Hirata H, Kakutani K, et al. Notochordal cell disappearance and modes of apoptotic cell death in a rat tail static compression-induced disc degeneration model [J]. *Arthritis Res Ther*, 2014, 16 (1): R31.
- [12] 童通, 雷涛, 申勇. 椎间盘退行性变中细胞凋亡的分子机制 [J]. *中国矫形外科杂志*, 2017, 25 (19): 1788-1792.
- [13] Wang Z, Wang G, Zhu X, et al. Interleukin-2 is upregulated in patients with a prolapsed lumbar intervertebral disc and modulates cell proliferation, apoptosis and extracellular matrix metabolism of human nucleus pulposus cells [J]. *Exper Ther Med*, 2015, 10 (6): 2437-2443.
- [14] Suzuki S, Fujita N, Fujii T, et al. Potential involvement of the IL-6/JAK/STAT3 pathway in the pathogenesis of intervertebral disc degeneration [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2017, 42 (14): E817-E824.
- [15] Chen J, Mei Z, Huang B, et al. IL-6/YAP1/beta-catenin signaling is involved in intervertebral disc degeneration [J]. *J Cellular Physiol*, 2019, 234 (5): 5964-5971.
- [16] Zhang Y, Zhao Y, Li J, et al. Interleukin-9 promotes TNF-alpha and PGE2 release in human degenerated intervertebral disc tissues [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2016, 41 (21): 1631-1640.
- [17] Demoulin JB, Van Snick J, Renauld JC. Interleukin-9 (IL-9) induces cell growth arrest associated with sustained signal transducer and activator of transcription activation in lymphoma cells overexpressing the IL-9 receptor [J]. *Cell Growth Differ*, 2001, 16 (3-4): 169-174.
- [18] Zhang W, Nie L, Wang Y, et al. CCL20 secretion from the nucleus pulposus improves the recruitment of CCR6-expressing Th17 cells to degenerated IVD tissues [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (6): e66286.
- [19] Hu B, Wang J, Wu X, et al. Interleukin-17 upregulates vascular endothelial growth factor by activating the JAK/STAT pathway in nucleus pulposus cells [J]. *Joint Bone Spine*, 2017, 84 (3): 327-334.
- [20] Yao Z, Nie L, Zhao Y, et al. Salubrinal suppresses IL-17-induced upregulation of MMP-13 and extracellular matrix degradation through the NF-kB pathway in human nucleus pulposus cells [J]. *Inflammation*, 2016, 39 (6): 1997-2007.
- [21] Li JK, Nie L, Zhao YP, et al. IL-17 mediates inflammatory reactions via p38/c-Fos and JNK/c-Jun activation in an AP-1-dependent manner in human nucleus pulposus cells [J]. *J Transl Med*, 2016, 14: 77.
- [22] Ye S, Ju B, Wang H, et al. Bone morphogenetic protein-2 provokes interleukin-18-induced human intervertebral disc degeneration [J]. *Bone Joint Res*, 2016, 5 (9): 412-418.
- [23] Zhang K, Gao L, Wang HX, et al. Interleukin-18 inhibition protects against intervertebral disc degeneration via the inactivation of

- caspase-3/9 dependent apoptotic pathways [J]. Immunol Invest, 2022, 51 (6): 1895-1907.
- [24] Yang T, Xu H. Influence of IL-20 on lumbar disc degeneration: an experimental study [J]. Pakistan J Med Sci, 2015, 31 (1): 155-158.
- [25] Huang KY, Lin RM, Chen WY, et al. IL-20 may contribute to the pathogenesis of human intervertebral disc herniation [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2008, 33 (19): 2034-2040.
- [26] Chen B, Liu Y, Zhang Y, et al. IL-21 is positively associated with intervertebral disc degeneration by interaction with TNF- α through the JAK-STAT signaling pathway [J]. Inflammation, 2017, 40 (2): 612-622.
- [27] Spolski R, Leonard WJ. Interleukin-21: a double-edged sword with therapeutic potential [J]. Nat Rev Drug Discov, 2014, 13 (5): 379-395.
- [28] Mahmoudi M, Tahghighi F, Ziaee V, et al. Interleukin-4 single nucleotide polymorphisms in juvenile systemic lupus erythematosus [J]. Int J Immunogenetics, 2014, 41 (6): 512-517.
- [29] Akyol S, Eraslan BS, Etyemez H, et al. Catabolic cytokine expressions in patients with degenerative disc disease [J]. Turkish Neurosurg, 2010, 20 (4): 492-499.
- [30] Kedong H, Wang D, Sagaram M, et al. Anti-inflammatory effects of interleukin-4 on intervertebral disc cells [J]. Spine J, 2020, 20 (1): 60-68.
- [31] Wang S, Wei J, Fan Y, et al. Progranulin is positively associated with intervertebral disc degeneration by interaction with IL-10 and IL-17 through TNF pathways [J]. Inflammation, 2018, 41 (5): 1852-1863.
- [32] Li W, Liu T, Wu L, et al. Blocking the function of inflammatory cytokines and mediators by using IL-10 and TGF- β : a potential biological immunotherapy for intervertebral disc degeneration in a beagle model [J]. Int J Mol Sci, 2014, 15 (10): 17270-17283.
- [33] Ge J, Yan Q, Wang Y, et al. IL-10 delays the degeneration of intervertebral discs by suppressing the P38 MAPK signaling pathway [J]. Free Radic Biol Med, 2020, 147: 262-270.
- [34] Hu J, Yan Q, Jiang H, et al. A decrease in IL-33 regulates matrix degradation and apoptosis in intervertebral disc degeneration via HIF-1 α [J]. Am J Transl Res, 2021, 13 (11): 12724-12733.

(收稿:2022-12-10 修回:2022-12-29)
(同行评议专家:管廷进 林锦秀)
(本文编辑:宁桦)

读者·作者·编者

如何检索引用《中国矫形外科杂志》及文献格式

点击本刊网址进入《中国矫形外科杂志》官网 (<http://jxwk.ijournal.cn>), 点击上方菜单栏: 期刊浏览, 显示本刊站内检索窗口, 输入您要查找的自由词, 点击回车。网页即显示相关内容。点击排列方式, 您可按“相关性、发现时间……”排列篇名。点击篇名, 弹出摘要页面进行阅读。如果需要引用, 点击右上角“”符号, 在弹出的提示框里将内容复制粘贴: “Ctrl+C”复制, “Ctrl+V”在您的文中粘贴。

文献格式需严格按本刊格式要求进行修改, 作者仅引用前3位, 超过3位时, 加“等.”或“et al.”。英文作者仅用姓(last name), 仅首字母大写, 而名(first name, middle name) 仅用其第一个字母大写缩写。文章题目仅首字母大写。期刊名用Pubmed标准缩写, 示例如下:

[1] 王本祯, 冯志伟, 宋军旗, 等. 阻挡针结合生根技术新型胫骨髓内钉治疗胫骨远端骨折[J]. 中国矫形外科杂志, 2019, 27(20): 1913-1915.

[2] 陈世益, 冯华. 现代骨科运动医学[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2020: 197-200.

[3] Bhan K, Tyagi A, Kainth T, et al. Reamed exchange nailing in nonunion of tibial shaft fractures: a review of the current evidence [J]. Cureus, 2020, 12(7): e9267.

[4] Louachama O, Rada N, Draiss G, et al. Idiopathic spinal epidural lipomatosis: unusual presentation and difficult management[J/OL]. Case Rep Pediatr, 2021. Epub ahead of print. http://https://www.researchgate.net/publication/349301832_Idiopathic_Spinal_Epidural_Lipomatosis_Unusual_Presentation_and_Difficult_Management

参考文献格式详细规范请参照参考文献格式国家标准 (GB-T7714-2005)。