

· 基础研究 ·

激素性股骨头坏死的生物标志与免疫浸润分析[△]

梁夏铭, 岳颂凯, 翟港港, 郑稼*, 董永辉, 代志鹏

[郑州大学人民医院(河南省人民医院骨科), 河南郑州 450003]

摘要: [目的] 探讨参与激素性股骨头坏死(steroid-induced osteonecrosis of femoral head, SONFH)的潜在长链非编码RNA(lncRNA)和信号通路,并研究其分子机制。[方法] 从NCBI-GEO数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)下载微阵列数据(GSE123568),并使用生物信息学工具对其进行分析。通过分析差异表达基因(differentially expressed genes, DEG)、京都基因和基因组百科全书扩增通路、基因本体论,鉴定出蛋白质-蛋白质相互作用网络,确定了3个关键非编码基因和6个关键mrna。并进一步研究激素性股骨头坏死mRNAs、miRNAs和lncRNAs的共表达谱,建立SONFH特异性竞争内源性RNA(ceRNA)网络,分析免疫浸润,探索DEG与免疫细胞的相关性。最后用GSE26316进行验证。[结果] 在基因芯片中总共获得了374个mRNA,258个下调,116个上调。获得7个lncRNA,其中C20orf197、MIR22HG、XIST是差异显著的lncRNA($P<0.05$)。生物过程分析结果表明,DEG在炎症反应中富集明显;分子功能分析表明,DEG在泛素-蛋白质转移酶活性、泛素蛋白连接酶结合、受体活性富集显著;对于细胞组分分析表明,DEG主要富集于细胞质。PPI网络模块中的基因主要在GO的血影蛋白相关细胞骨架、质膜和细胞骨架的结构成分中富集显著,而在KEGG中,主要在Toll样受体信号通路中富集。本研究共得到了6个关键基因。通过分析其免疫浸润,发现与正常组织相比,SONFH组织含有更多比例的CD4原始T细胞($P<0.05$),从GSE26316数据集验证了关键基因FOXO3的表达水平。[结论] C20orf197、MIR22HG、XIST是SONFH发病过程中的潜在标志物,基因轴XIST/Has-miR-217/FOXO3在SONFH的发生发展过程中起到重要作用。

关键词: 激素性股骨头坏死,长非编码RNA,发病机制

中图分类号: R681.57 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478(2023)13-1208-06

Biomarkers and immune infiltration analysis of steroid-induced necrosis of the femoral head // LIANG Xia-ming, YUE Song-kai, ZHAI Gang-gang, ZHENG Jia, DONG Yong-hui, DAI Zhi-peng. Department of Orthopedics, People's Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, China

Abstract: [Objective] To identify the potential long non-coding RNAs (lncRNAs) and signaling pathways involved in steroid-induced osteonecrosis of femoral head (SONFH), and investigate their molecular mechanisms. [Methods] Microarray data (GSE123568) were downloaded from NCBI-GEO and analyzed using bioinformatics tools. By analyzing Differentially Expressed Genes (DEG), Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) amplification pathways, Gene Ontology (GO), and finally identified a protein-protein interaction (PPI) network and identified 3 key noncoding genes and 1 key mRNA. We further studied the co-expression profiles of mRNAs, miRNAs and lncRNAs in SONFH, established a specific competitive endogenous RNA (ceRNA) network for SONFH, analyzed immune infiltration, and explored the relationship between DEG and immune cells, finally verified with GSE26316. [Results] A total of 374 mRNAs were obtained in the microarray, including 258 down-regulated and 116 up-regulated. Seven lncRNAs were obtained, among which C20orf197, MIR22HG and XIST were significantly different ($P<0.05$). The results of biological process analysis showed that DEG was obviously enriched in inflammatory response. Molecular function analysis showed that DEG was significantly enriched in ubiquitin-protein transferase activity, ubiquitin-protein ligase binding and receptor activity. Analysis of cell components showed that DEG was mainly enriched in cytoplasm. Genes in PPI network modules were mainly enriched in the structural components of GO's blood shadow protein-related cytoskeleton, plasma membrane and cytoskeleton, while in KEGG, they were mainly enriched in toll-like receptor signaling pathways. Six key genes were identified in this study. By analyzing the immune infiltration, it was found that SONFH tissues contained a higher proportion of CD4 primitive T cells ($P<0.05$), and verified the expression level of FOXO3 in GSE26316 data set. [Conclusion] C20orf197, MIR22HG and XIST are

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2023.13.11

[△]基金项目:国家自然科学基金青年项目(编号:82002300);河南省自然科学基金青年项目(编号:212300410242)

作者简介:梁夏铭,住院医师,专业型硕士研究生在读,研究方向:骨科(关节矫形方向),(电话)15660585729,(电子信箱)865567901@qq.com

*通信作者:郑稼,(电话)18539260180,(电子信箱)zhengjia90180@sina.com

potential markers in the pathogenesis of SONFH, and the gene axis XIST/Has-miR-217/FOXO3 plays an important role in the occurrence and development of SONFH.

Key words: steroid-induced osteonecrosis of the femoral head, long non-coding RNA, pathogenesis

股骨头坏死 (osteonecrosis of the femoral head, ONFH) 是由多种原因导致的股骨头局部缺血, 从而引起的骨组织结构疏松, 极容易引起塌陷, 包含股骨头无菌性坏死或股骨头缺血性坏死等^[1]。股骨头一旦发生塌陷, 保守治疗不能产生较好的效果, 只能行髋关节置换术^[2]。我国 ONFH 患者的主要是激素性股骨头坏死 (steroid induced osteonecrosis of the femoral head, SONFH), 类固醇药物的大量使用是引起 SONFH 的重要危险因素。目前公认的 SONFH 发病机制是脂代谢紊乱学说, 激素能抑制骨髓间充质干细胞成骨分化, 促进成脂分化导致脂肪栓子、游离脂肪酸的出现^[3], 并引起血管内高凝状态损伤血管内皮细胞, 造成组织缺血、缺氧, 最终导致骨细胞坏死^[4]。近年来随着对基因研究的深入, 在 SONFH 发生的分子机制上有了很大的进展。然而对于 SONFH 的确切发病机制, 至今没有统一定论。因此有必要继续寻找 SONFH 相关的潜在生物标志物与分子机制, 从而寻找出针对 SONFH 的更有效、更完善的诊治方法。

本文分析了从高通量基因表达 (gene expression Omnibus, GEO) 数据库下载的基因芯片 GSE123568, 来确定服用激素后发生 ONFH 与未发生 ONFH 患者之间的差异表达基因 (differential expressed genes, DEG)。然后通过基因本体论 (GO)、京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 和基因富集分析 (gene set enrichment analysis, GSEA) 来研究激素导致股骨头坏死过程中的表达通路。之后构建 PPI 网络, 使用 Cytoscape 插件对关键基因进行了筛选, 通过对 lncRNA 相关 ceRNA 整合网络的分析、识别和研究 lncRNA 相关生物标志物在 SONFH 发病过程中的功能作用。本研究筛选得到的 lncRNA-miRNA-mRNA 关键轴可以作为 SONFH 发病机制研究过程中的一次理性的探索。

1 材料与方法

1.1 数据库与数据提取

从 GEO 数据库提取了来源于 GPL15207 平台的数据集 GSE123568, 其中包括 30 例 SONFH 患者和 10 例非 SONFH 患者 (类固醇给药后)^[5]。

1.2 筛选差异表达基因

使用 R 软件 (版本 3.6.1; http://www.r.zulib.vpn358.com__project.org/) 和对应的 R 包进行分析, 在 R 软件中执行以下参数, 包括分位数、RMA、Median polish 和 pmonly。再用微阵列数据线性模型 (LIMMA) 包进行差异分析^[6], 筛选标准: \log_2 fold change (FC) >1 和 P value < 0.05。

1.3 蛋白相互作用网络 (protein-protein interaction, PPI) 关键基因

通过搜索互作基因 (STRING; <http://www.string-db.org/>) (版本 12.0) 在线数据库预测 PPI 网络得到基因对^[7], 以综合得分 >0.4 为截断点的 DEG 构建 PPI 网络。然后使用 Cytoscape (版本 3.7.2) 软件构建 PPI 网络^[8], 最重要的模块由 MCODE 插件进行确认。标准: degree cut-off=2, MCODE scores >4, Max depth=100, node score cutoff=0.3 和 k-score=2。最后使用 Cytoscape 的 Cytohubba 插件对筛选网络中的关键基因, 使用 5 种方法 (Degree、MCC、Radiality、Stress、Closeness) 以筛选 PPI 网络中的关键基因, 筛选出关键基因后再次构建 PPI 网络。

1.4 CeRNA 网络构建

使用微码数据库 (<http://www.mircode.org/>) 预测与差异 lncRNAs 相互作用的 miRNAs, 得到 lncRNA-miRNA 互作对^[9]。然后借助于 TargetScan (<http://www.targetscan.org/>)^[10]、miRTarBase (<http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw/>)^[11] 和 miRDB (<http://www.mirdb.org/>)^[12] 数据库预测 miRNAs 的相关靶标 mRNAs, 为了提高结果的准确性, 选择了这 3 个数据库中存在的靶标 RNA 进行后续分析。最后, 将预测的靶标基因 mRNAs 与差异 mRNAs 取交集, 构建 miRNA-mRNA 互作对。使用 Cytoscape (版本 3.7.2) 构建 CeRNA 调控网络。

1.5 差异表达基因富集分析

使用 David (<https://david.ncifcrf.gov/>) 进行富集分析^[13], 从分子水平和功能水平研究 DEG。GO (gene ontology) 数据库中包括描述基因基本特征的词汇或结构。KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 数据库从基因组、系统性和化学功能通路等方面综合信息。首先对数据集中的差异基因进行浓缩分析, 然后根据 lncRNA 与 mRNA 的相关性, 分析 lncRNA 靶基因与差异表达的 mRNA 的重叠部分。重叠部分的

mRNAs 更有可能受到 lncRNA 的直接或间接调控。

1.6 免疫浸润分析

使用 CIBERSORT 分析技术分析 GSE123568 的疾病组和正常样品之间的免疫细胞浸润水平，参数“PERM”设置为 1 000 和截止值 $P < 0.05$ 。计算样本中每种免疫细胞的比例，并使用条形图显示。“pheatmap”包用于创建 22 个免疫细胞的热图，并使用“vioplot”包显示丰度。使用“corrplot”包创建了一个相关热图，以可视化 22 个不同浸润免疫细胞之间的相关性。

1.7 基因表达综合集中验证

GSE26316 数据集来自 Gene Expression Omnibus (GEO)，使用此数据集验证得到的关键基因。

2 结果

2.1 确定差异表达的 lncRNA 和 mRNA

在对微阵列结果进行归一化后，从公共数据库 GEO 获得微阵列数据集 GSE123568。根据截断标准 ($\log_2FC > 1$ 和 $Fdr < 0.05$)，在基因芯片中总共获得了 374 个 mRNA (258 个下调和 116 个上调)；获得 7 个 lncRNA，其中 C20orf197、MIR22HG、XIST 是差异显著的 lncRNA ($Fdr < 0.05$)。在火山图中提供了 GSE123568 中基因表达的总体情况 (图 1a)。层次聚类的热图表明，GSE123568 中基因表达的所有景观都分为对照组和正常组 (图 1b)。

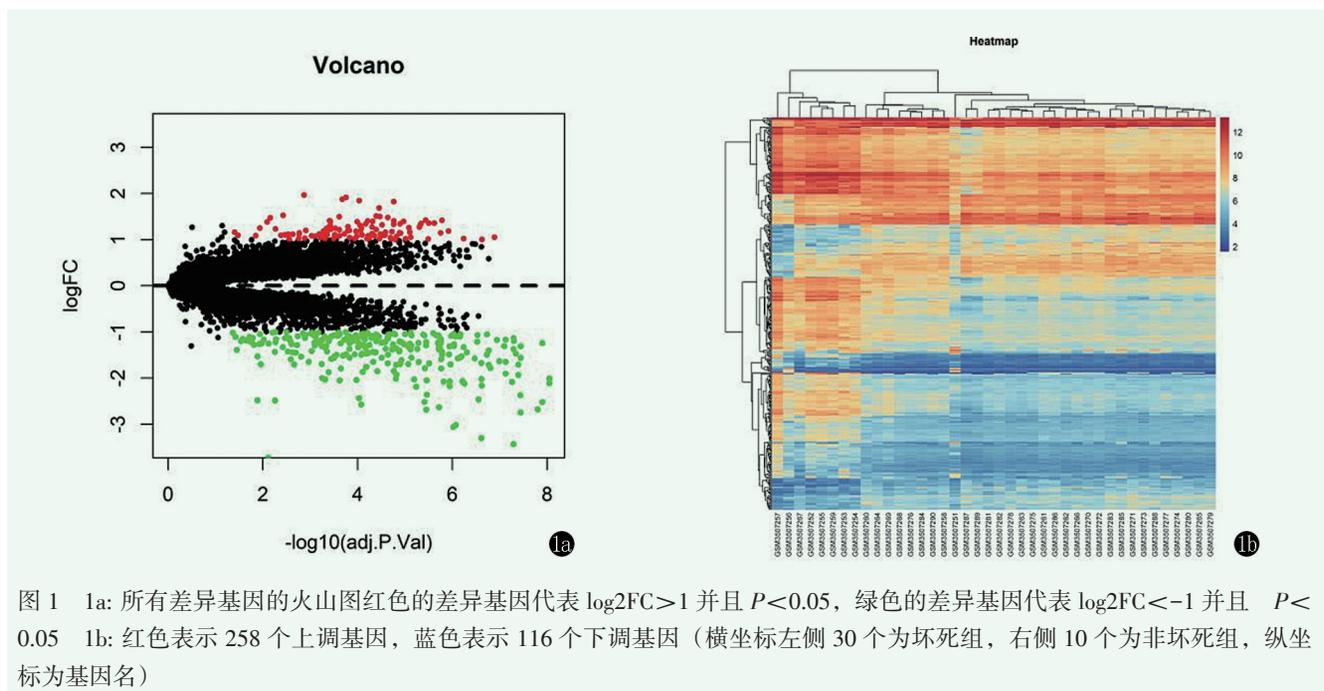


图 1 1a: 所有差异基因的火山图红色的差异基因代表 $\log_2FC > 1$ 并且 $P < 0.05$ ，绿色的差异基因代表 $\log_2FC < -1$ 并且 $P < 0.05$ 1b: 红色表示 258 个上调基因，蓝色表示 116 个下调基因 (横坐标左侧 30 个为坏死组，右侧 10 个为非坏死组，纵坐标为基因名)

2.2 GO 和 KEGG 的富集分析

使用 DAVID 对差异基因进行 GO 和 KEGG 富集分析，如图 2 所示，分别显示了在 GO 分析中的前 10 个富集的部分。生物过程分析结果表明，DEG 在炎症反应中富集明显；分子功能分析表明，DEG 在泛素-蛋白质转移酶活性、泛素蛋白连接酶结合、受体活性富集显著；对于细胞组分分析表明，DEG 主要富集于细胞质。

KEGG 通路富集分析表明，DEG 主要在趋化因子信号通路、癌症中的转录失调、细胞粘附分子、麻疹、破骨细胞分化、类风湿关节炎途径中富集显著。在这些通路中趋化因子信号通路占主要部分。

2.3 lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA 调控网络构建与富集分析

使用 Cytoscape 构建了一个 lncRNA-miRNA-mRNA 网络 (图 2)，其中涉及 61 个节点和 91 个边。在这个 ceRNA 网络中，包含 3 个 lncRNA (C20orf197、MIR22HG、XIST)，21 个 miRNA 和 37 个 mRNA。在这个 ceRNA 网络中使用 DAVID 的功能分析表明基因富集在 GO:0005829 cytosol (CC)，GO:0007049 cell cycle (BP)，GO:0005515 protein binding (MF) 和 hsa04211: Longevity regulating pathway。

2.4 构建 PPI 网络

使用 Cytoscape 把 STRING 数据库获得的 PPI 网络整理得到 1 009 条边和 304 个节点。边表示 DEG 之间的交互，节点表示 DEG。然后，使用 MCODE 模块选择 PPI 网络最显著的模块。使用 DAVID 对最显著模块中基因进行了富集分析。结果表明，该模块

中的基因主要在 GO 的血影蛋白相关细胞骨架、质膜和细胞骨架的结构成分中富集显著，而在 KEGG 中，主要在 Toll 样受体信号通路中富集（表 1）。

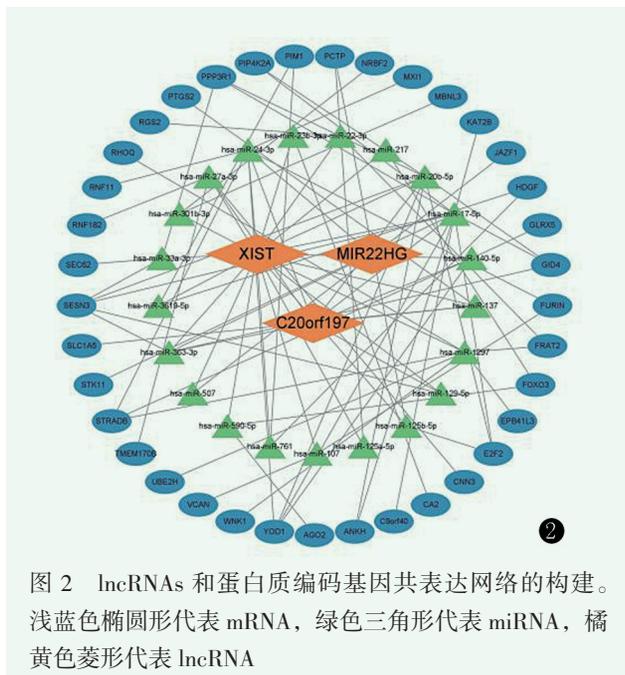


图 2 lncRNAs 和蛋白质编码基因共表达网络的构建。浅蓝色椭圆形代表 mRNA，绿色三角形代表 miRNA，橘黄色菱形代表 lncRNA

2.5 确定关键基因

使用 Cytoscape 中的 cytoHubba 插件来确定关键

基因。根据 cytoHubba 的 5 种分类方法筛选中心基因，表 2 显示了分别用这些方法选取的 15 个中心基因。最后，把 5 种方法筛选出的基因进行重叠得到了 6 个关键基因。这 6 个基因都存在于这 5 个方法中，分别是：TP53、HSP90AA1、EP300、CCND1、STAT3、FOXO3。

2.6 免疫细胞浸润分析

利用 CIBERSORT 算法，研究了 GSE123568 的疾病组与正常组织免疫细胞浸润的差异，参数“PERM”设置为 1 000 和截止值 $P < 0.05$ ，并使用“vioplot”包显示丰度。总结得到了 10 例正常对照组和 30 例 SONFH 患者的结果。与正常组织相比，SONFH 组织通常含有较低比例的活性 CD4T 记忆细胞。使用 corrpilot 包，创建 lncRNA XIST 和免疫浸润的相关性图（图 3a）以及 mRNA FOXO3 和免疫浸润的相关性图（图 3b）。

2.7 对差异基因的验证

Ccnd1、EP300、Foxo3、TP53 是得到的关键基因，基于 GSE26316 数据集对 Ccnd1、EP300、Foxo3、TP53 的表达进行验证（图 3c）。这一结果与作者综合分析的结果基本一致。

表 1 对关键模块的差异基因进行 GO 和 KEGG 富集分析的前 10 项富集结果

项目	P 值	数量	包含的基因
GO:0005200 structural constituent of cytoskeleton (MF)	0.000 150 23	4	EPB42, EPB41, SPTB, ANK1
GO:0005102 receptor binding (MF)	0.007 128 46	4	FCN1, HCK, TYROBP, FGL2
GO:0038187 pattern recognition receptor activity (MF)	0.017 081 39	2	FCN1, TLR8
GO:0014731 spectrin-associated cytoskeleton (CC)	0.000 026 08	3	EPB41, SPTB, ANK1
GO:0005886 plasma membrane (CC)	0.000 159 27	14	RGS18, P2RY13, CLEC12A, EPB42, PB41, LILRB2, TREM1, SPTB, ANK1, HCK, TYROBP, TLR8, MS4A14, CD14
GO:0030863 cortical cytoskeleton (CC)	0.000 213 37	3	TMOD1, EPB42, EPB41
GO:0006968 cellular defense response (BP)	0.001 246 07	3	TYROBP, MNDA, LILRB2
GO:0032757 positive regulation of interleukin-8 production (BP)	0.001 811 19	3	FCN1, TLR8, CD14
GO:0032731 positive regulation of interleukin-1 beta production (BP)	0.001 811 19	3	TYROBP, TLR8, MNDA
hsa04620:Toll-like receptor signaling pathway	0.086 089 16	2	TLR8, CD14

3 讨论

激素性股骨头坏死仍然缺乏有效的治疗方法。因此，了解激素性股骨头坏死的分子机制对于寻找有效的诊断方法和替代治疗策略具有重要意义。本研究鉴定了 3 个 lncrna (C20orf197、MIR22HG、XIST)，它们可能在激素性股骨头坏死的进展中发挥了重要作用。在 LcRNA 和 GSE123568 中预测的 mRNA 的重

叠部分，获得了丰富的 mRNA，将重叠的基因与 Srt-ing 获得的 HUB 基因进行比较，发现 lncRNA XIST 与 FOXO3 通过 Cerna 网络相连，最终得到 1 个基因轴，XIST/Has-miR-217/FOXO3 可能在激素性股骨头坏死的发病过程中起关键作用。

GO 分析表明，DEG 主要参与生物过程，基因主要在炎症反应中富集，可能与 IL-1 β 、IL-6、IL-17、IL-33 有关。IL-33 作为一种促炎细胞因子，已被证明可从坏死骨中特异性释放，在 ONFH 期间，

IL-33 从骨坏死骨释放后可以直接或间接方式调节骨重塑^[14]。IL-33 通过 toll 样/IL-1 受体 ST2 对破骨细胞生成产生直接影响^[15]。IL-33 对破骨细胞生成的刺激作用可能部分是直接的，IL-33 刺激人 CD14 (+) 单核细胞形成功能性破骨细胞^[16, 17]，增强破骨细胞分化因子的表达，包括 TNF- α 受体相关因子 6 (TRAF6)^[18]、活化 T 细胞胞质核因子 1、c-Fos、c-Src、组织蛋白酶 K 和降钙素受体并最终诱导骨吸

收。IL-33 通过调节炎症细胞的募集和行为来调节炎症反应和血管形成的特性可以解释 ONFH 期间对骨重塑的间接影响^[20]。此外，之前有研究表明 IL-33 可能通过提高血管通透性来刺激破骨细胞的分化和活化并干扰坏死骨修复^[19]，这些研究也侧面地证实了本实验的富集功能结果，作者推测，这些基因是通过炎症反应破坏正常的骨代谢平衡，导致股骨头坏死进展。

表 2 Cytoscape 插件 5 种方法筛选出关键基因

Closeness	Degree	MCC	Radiality	Stress
TP53	TP53	TP53	TP53	EGFR
EGFR	EGFR	CCND1	EGFR	TP53
HSP90AA1	HSP90AA1	MDM2	EP300	STK11
EP300	EP300	CCNA2	HSP90AA1	HSP90AA1
CCND1	CCND1	SKP2	CCND1	EP300
STAT3	STAT3	CCNB1	STAT3	SMAD2
MDM2	FOXO3	CDK4	MDM2	STUB1
FOXO3	MDM2	STAT3	FOXO3	TADA3
CREBBP	CDK4	CDK2	CREBBP	CREBBP
SIRT1	CDK2	CCND2	ERBB2	CCND1
ERBB2	CREBBP	CDKN1B	SIRT1	SKP2
CDK4	SIRT1	FOXO3	STUB1	EXOC4
CDKN1B	ERBB2	CCNE1	PPARG	STAT3
CDK2	CDKN1B	EP300	CDKN1B	PPARG
PPARG	PPARG	HSP90AA1	SMAD2	FOXO3

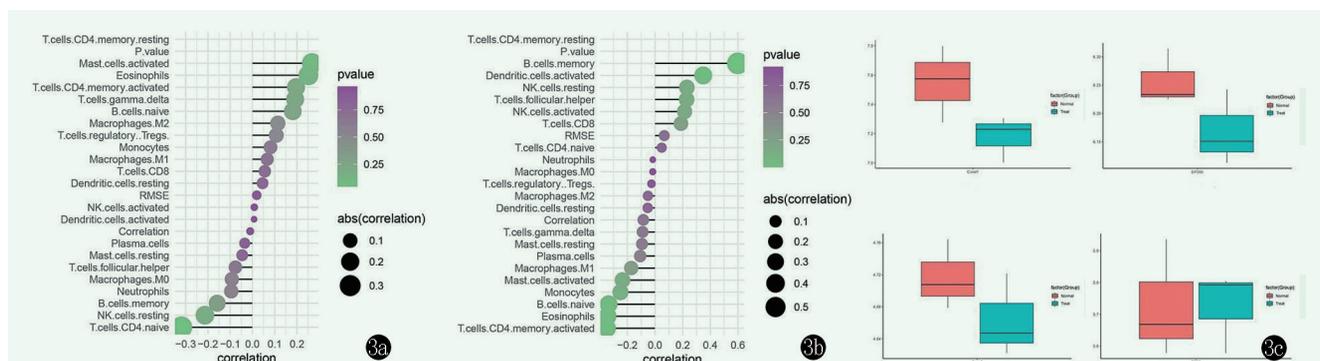


图 3 3a: lncRNA XIST 和免疫浸润的相关性图 3b: mRNA FOXO3 和免疫浸润的相关性图 3c: 验证在 GSE26316 数据集中关键基因的表达水平 X 轴表示基因，Y 轴表示基因表达水平

KEGG 通路分析表明，差异基因主要参与破骨细胞分化等过程。IL-34 可以促进破骨细胞的分化和活化，这可能有助于类固醇诱导的股骨头坏死 (ONFH)^[20, 21]。在关键模块中发现，该模块的差异基因在 GO 富集分析中细胞骨架的结构成分、白细胞介素-1 β 产生的正调节、Toll 样受体信号通路处富集显著，这与本团队之前的富集功能分析结果一致。此

外，作者确定了 6 个关键基因 TP53、HSP90AA1、EP300、CCND1、STAT3、FOXO3。以往研究已报道 FOXO3 可能通过调节 toll 样受体 4 的表达参与人单核细胞对脂多糖的炎症反应^[22, 23]，以及 FOXO3 的作用机制和骨关节炎有关^[24]，但关于 FOXO3 与激素性股骨头坏死的关系尚未见报道，有待进一步研究。已有实验证明 LncRNA XIST 与骨髓间充质干细胞的软

骨分化和 TAF15/FUT1 轴的骨关节炎进展密切相关^[25]。有研究表明 Has-miR-217 在骨肉瘤的发展中起着抑癌作用^[26]。本研究的关键发现是利用生物信息学方法获得了激素性股骨头坏死的基因表达谱。发现了 3 个 lncRNA 生物标志物和 1 个基因轴 XIST/Has-miR-217/FOXO3，它们可能通过调节蛋白结合和细胞质而在激素性股骨头坏死发病中发挥重要作用。此外，还获得了关键基因与免疫细胞的相关性，这有助于进一步了解激素性股骨头坏死的形成机制，为激素性股骨头坏死患者的诊断和治疗提供有用的生物标志物。然而，本研究的局限性是，没有进一步的临床试验来验证它，但它仍然会对以后的研究产生很大的帮助。

参考文献

- [1] 毕煦昆, 郭成龙, 赵建栋, 等. 骨髓间充质干细胞来源分泌体及其相关信号通路在激素性股骨头坏死中作用的研究进展 [J]. 中国生物工程杂志, 2022, 19 (10): 70-79.
- [2] 陈宜, 祝云利, 吴海山. 非创伤性股骨头坏死的国外研究进展 [J]. 中国矫形外科杂志, 2010, 18 (3): 230-233.
- [3] 陈志雄, 王若禹, 许伟华. 5-氮杂胞苷和地塞米松对大鼠骨髓间充质干细胞分化作用的实验研究 [J]. 中国矫形外科杂志 2017, 25 (1): 58-63.
- [4] 温家福, 韦标方. 激素性股骨头坏死骨髓间充质干细胞成骨分化的研究进展 [J]. 解放军医学杂志, 2020, 45 (11): 1207-1214.
- [5] Edgar R, Domrachev M, Lash AE. Gene expression omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository [J]. Nucleic Acids Res, 2002, 30 (1): 207-210.
- [6] Ritchie ME, Phipson B, Wu D, et al. Limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies [J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43 (7): 47-48.
- [7] Franceschini A, Szklarczyk D, Frankild S, et al. STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration [J]. Nucleic Acids Res, 2013, 41 (3): 808-815.
- [8] Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. Genome Res, 2003, 13 (11): 2498-2504.
- [9] Jeggari A, Marks DS, Larsson E. MiRcode: a map of putative microRNA target sites in the long non-coding transcriptome [J]. Bioinformatics, 2012, 28 (15): 2062-2063.
- [10] Grimson A, Farh KK, Johnston WK, et al. MicroRNA targeting specificity in mammals: determinants beyond seed pairing [J]. Molecular cell, 2007, 27 (1): 91-105.
- [11] Chou CH, Shrestha S, Yang CD, et al. MiRTarBase update 2018: a resource for experimentally validated microRNA-target interactions [J]. Nucleic Acids Res, 2018, 46 (1): 296-302.
- [12] Wong N, Wang X. MiRDB: an online resource for microRNA target prediction and functional annotations [J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43 (1): 146-152.
- [13] Huang DW, Sherman BT, Tan Q, et al. DAVID bioinformatics resources: expanded annotation database and novel algorithms to better extract biology from large gene lists [J]. Nucleic Acids Res, 2007, 35 (2): 169-175.
- [14] Saidi S, Magne D. Interleukin-33: a novel player in osteonecrosis of the femoral head [J]. Joint Bone Spine, 2011, 78 (6): 550-554.
- [15] Schmitz J, Owyang A, Oldham E, et al. IL-33, an interleukin1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines [J]. Immunity, 2005, 23 (5): 479-490.
- [16] Williams EL, Stimpson ML, Lait PJP, et al. Glucocorticoid treatment in patients with newly diagnosed immune thrombocytopenia switches CD14(++) CD16(+) intermediate monocytes from a pro-inflammatory to an anti-inflammatory phenotype [J]. Br J Haematol, 2021, 192 (2): 375-384.
- [17] 喻钧伦, 唐曦, 黄雨, 等. 激素联合脂多糖诱导股骨头缺血坏死模型兔的骨质变化 [J]. 中国组织工程研究, 2017, 21 (28): 4518-4522.
- [18] 卢非凡, 张启栋, 王卫国, 等. 激素性股骨头坏死信号通路的研究进展 [J]. 中国矫形外科杂志, 2018, 26 (11): 1017-1021.
- [19] Choi YS, Choi HJ, Min JK, et al. Interleukin-33 induces angiogenesis and vascular permeability through ST2/TRAF6-mediated endothelial nitric oxide production [J]. Blood, 2009, 114 (14): 3117-3126.
- [20] Wang F, Min H, Shan H, et al. IL-34 Aggravates steroid-induced osteonecrosis of the femoral head via promoting osteoclast differentiation [J]. Immune Network, 2022, 22 (3): e25.
- [21] Wang M, Min H, Shan H, et al. Bone morphogenetic protein 2 controls steroid-induced osteonecrosis of the femoral head via directly inhibiting interleukin-34 expression [J]. J Mol Endocrinol, 2021, 68 (1): 1-9.
- [22] Makaremi S, Rose M, Ranjit S, et al. Lateral diffusion of CD14 and TLR2 in macrophage plasma membrane assessed by raster image correlation spectroscopy and single particle tracking [J]. Sci Rep, 2020, 10 (1): 19375.
- [23] Zhang S, Li Z, Weinman S. FoxO3 might be involved in the inflammatory response of human monocytes to lipopolysaccharide through regulating expression of toll like receptor 4 [J]. Mol Biol Rep, 2022, 49 (8): 7611-7621.
- [24] Ohzono H, Hu Y, Nagira K, et al. Targeting FoxO transcription factors with HDAC inhibitors for the treatment of osteoarthritis [J]. Ann Rheumatic Dis, 2022, 15 (12): 66-67.
- [25] He J, Cheng M, Ye J, et al. YY1-induced lncRNA XIST inhibits cartilage differentiation of BMSCs by binding with TAF15 to stabilizing FUT1 expression [J]. Reg Ther, 2022, 29 (20): 41-50.
- [26] He S, Wang Z, Tang H, et al. SIRT1/miR-217 inhibits proliferation, migration, and invasion by targeting in osteosarcoma [J]. Cancer Biother Radiopharm, 2019, 34 (4): 264-270.

(收稿:2022-11-07 修回:2023-03-28)
(同行评议专家:李宏宇 丁凡)
(本文编辑:宁桦)