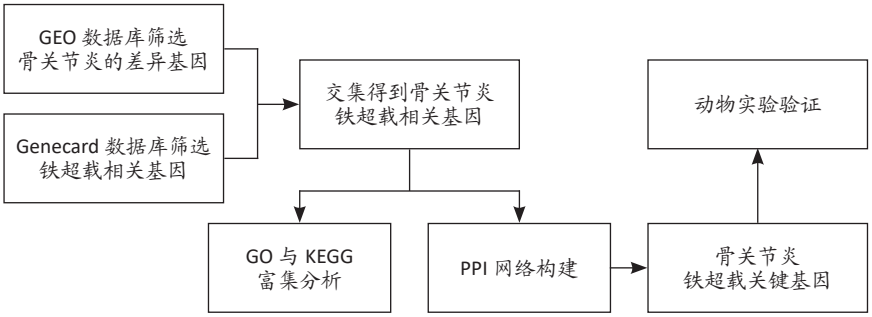
基于生物信息学对骨关节炎铁超载关键基因的筛选与验证

邓柯淇[1]，李光第[1, 2]，GOSWAMI ASHUTOSH[1]，刘星余[1]，何孝勇[1]

https://doi.org/10.12307/2025.243
投稿日期：2024-01-09
采用日期：2024-02-21
修回日期：2024-03-09
在线日期：2024-03-21
中图分类号：
R459.9；R363；R364
文章编号：
2095-4344(2025)09-01972-09
文献标识码：A

文章快速阅读：骨关节炎铁超载关键基因的筛选



文题释义：

骨关节炎：是一种常见的退行性和进行性关节疾病，是导致关节疼痛、关节功能障碍和畸形以及肢体残疾的主要原因。

铁超载：是指体内铁积累过多的情况，这可能会对细胞造成损害。细胞损伤可归因于过氧化应激，在这些条件下可能会发生各种组织的病理改变。

摘要

背景：铁超载是指体内铁积累过多的情况，可引起各种组织的病理改变。目前，对于骨关节炎中铁超载相关的分子机制和潜在基因靶点，仍有待进一步的研究和探索。

目的：通过生物信息学手段分析骨关节炎铁超载关键基因，并利用动物实验加以验证，以期为铁超载角度防治骨关节炎提供新的思路。

方法：使用GEO数据库和GeneCards数据库筛选出与骨关节炎相关的基因和铁超载相关的基因。然后，取两者的交集，得到骨关节炎和铁超载共同相关的基因集合。采用GO和KEGG富集分析筛选这些基因的功能和通路。为了进一步研究这些基因之间的相互作用，构建PPI网络，并利用Cytoscape软件的5种计算方法来识别骨关节炎铁超载的关键基因(Hub基因)。将12只雄性SD大鼠分为骨关节炎组与对照组(正常大鼠)，每组6只，骨关节炎组大鼠采用改良Hulth方法建立膝骨关节炎模型，并使用PCR检测Hub基因在两组大鼠膝关节组织中的表达情况。

结果与结论：①共获得51个骨关节炎铁超载基因，GO富集分析表明其主要参与细胞因子受体结合、趋化因子受体结合、细胞因子活性、生长因子受体结合及寡糖结合等过程；②KEGG富集分析表明骨关节炎铁超载基因主要参与肿瘤坏死因子信号通路、脂质和动脉粥样硬化等信号通路；③构建蛋白质-蛋白质相互作用网络，进一步分析获得细胞间黏附分子1(intercellular cell adhesion molecule-1，ICAM-1)、肿瘤坏死因子配体超家族成员11(tumor necrosis factor superfamily member 11，TNFSF11)、骨髓瘤细胞癌基因(myelocytomatosis oncogene，MYC)、Janus激酶2(janus kinase 2，JAK2)及白细胞介素6，5个骨关节炎铁超载Hub基因，动物实验证实其在对照组与骨关节炎组大鼠膝关节组织中的表达有显著差异($P < 0.05$)；④结果显示，ICAM-1，TNFSF11，MYC，JAK2及白细胞介素6可作为骨关节炎铁超载的关键基因，有望成为防治骨关节炎的新靶点。

关键词：骨关节炎；铁超载；关键基因；差异基因；生物信息学；动物实验；实验验证；生物标志物

Screening and validation of Hub genes for iron overload in osteoarthritis based on bioinformatics

Deng Keqi[1], Li Guangdi[1, 2], Goswami Ashutosh[1], Liu Xingyu[1], He Xiaoyong[1]

[1]Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China; [2]Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Deng Keqi, Master candidate, Physician, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Corresponding author: Li Guangdi, MD, Chief physician, Master's supervisor, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China; Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Abstract

BACKGROUND: Iron overload refers to excessive accumulation of iron in the body, which can cause pathological changes in various tissues. At present, the molecular mechanism and potential gene targets related to iron overload in osteoarthritis still need to be further studied and explored.

[1] 贵州医科大学，贵州省贵阳市 550004；[2] 贵州医科大学附属医院骨外科，贵州省贵阳市 550004

第一作者：邓柯淇，男，1997年生，四川省成都市人，汉族，贵州医科大学在读硕士，医师，主要从事骨性关节炎相关研究。

通讯作者：李光第，博士，主任医师，硕士生导师，贵州医科大学附属医院骨外科，贵州省贵阳市 550004

https://orcid.org/0009-0006-3825-7217(邓柯淇)

基金资助：国家自然科学基金地区科学基金项目 (82160432)，项目负责人：李光第；贵州省科技厅基础研究项目 (黔科合基础 -ZK[2022]- 一般 427)，项目负责人：李光第；贵州医科大学国家自然科学基金培育项目 (20NSP045)，项目负责人：李光第

引用本文：邓柯淇，李光第，GOSWAMI ASHUTOSH，刘星余，何孝勇 . 基于生物信息学对骨关节炎铁超载关键基因的筛选与验证 [J]. 中国组织工程研究，2025，29(9):1972-1980.

OBJECTIVE: To analyze the key genes of iron overload in osteoarthritis by means of bioinformatics and verify them in animal experiments, so as to provide a new idea for preventing and treating osteoarthritis from the perspective of iron overload.
METHODS: GEO database and GeneCards database were used to screen out genes associated with osteoarthritis and genes associated with iron overload. Then, the intersection of the two was taken to obtain a collection of genes commonly associated with osteoarthritis and iron overload. GO and KEGG enrichment analyses were used to screen the functions and pathways of these genes. To further investigate the interactions between these genes, a protein-protein interaction network was constructed and five computational methods of Cytoscape software were utilized to identify the Hub genes for iron overload in osteoarthritis. Finally, 12 male Sprague-Dawley rats were divided into osteoarthritis group and normal group, with 6 rats in each group. A knee osteoarthritis model was established by the modified Hulth method in the osteoarthritis group. The expression of Hub genes in the knee joint of rats in each group was detected by PCR.
RESULTS AND CONCLUSION: (1) A total of 51 genes associated with iron overload were identified in osteoarthritis. GO enrichment analysis showed that these genes were mainly involved in cytokine receptor binding, chemokine receptor binding, cytokine activity, growth factor receptor binding and oligosaccharide binding. (2) KEGG enrichment analysis showed that genes associated with iron overload in osteoarthritis was mainly involved in tumor necrosis factor signaling pathway and lipid and atherosclerosis signaling pathway. (3) The protein-protein interaction network was constructed, and five Hub genes of iron overload, intercellular cell adhesion molecule-1, tumor necrosis factor superfamily member 11, myelocytomatosis oncogene, janus kinase 2, and interleukin 6, were obtained by further analysis. Animal experiments verified that there were significant differences in the expression of the above Hub genes in the rat knee joint between the control group and the experimental group ($P < 0.05$). (4) All these findings show that intercellular cell adhesion molecule-1, tumor necrosis factor superfamily member 11, myelocytomatosis oncogene, janus kinase 2, and interleukin 6 can be used as the Hub genes of iron overload in osteoarthritis, which are expected to become new targets for the prevention and treatment of osteoarthritis.
Key words: osteoarthritis; iron overload; Hub gene; differential gene; bioinformatics; animal experiment; experimental verification; biomarker

Funding: *National Natural Science Foundation of China (Regional Program), No. 82160432 (to LGD); Basic Research Project of Guizhou Provincial Science and Technology Department, No. ZK[2022]-427 (to LGD); National Natural Science Foundation of China for Guizhou Medical University, No. 20NSP045 (to LGD)*
How to cite this article: *DENG KQ, LI GD, ASHUTOSH G, LIU XY, HE XY. Screening and validation of Hub genes for iron overload in osteoarthritis based on bioinformatics. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2025;29(9):1972-1980.*

0 引言 Introduction

骨关节炎是一种广泛存在的退行性和进行性关节疾病，是导致关节疼痛、关节功能障碍和畸形以及肢体残疾的主要原因，这种疾病会对生活质量产生负面影响[1]。在骨关节炎治疗方法中，组织工程致力于利用细胞和生物材料结合再生医疗技术来修复和再生受损的关节软骨组织[2]。然而，由于缺乏疾病修饰疗法，目前骨关节炎的早期治疗并不理想[3]。探索骨关节炎的发病机制，掌握其发生发展各个阶段的分子和细胞水平的变化，成为减缓或治愈疾病进程的关键所在。

铁是生命过程中必不可少的微量元素，参与了多种重要的生物化学反应，如氧的输送、细胞代谢和 DNA 的合成等[4]。然而，过量的铁积累 (即铁超载) 可能导致细胞毒性和多种组织的病理性改变[5]。骨关节炎是一种退行性关节疾病，长期的铁超载可能会加速骨关节炎的发展[6]。因此，了解铁超载状态下骨关节炎发展的机制极为重要。铁的过度积累可能会导致炎性反应，促使骨关节炎的病理过程加速[7]。另外，铁超载还可能通过调控基因表达，影响骨关节炎进程，这是当前研究待解决的一个关键问题[8]。所以，铁超载与骨关节炎的关系复杂而密切，通过研究这一领域，有助于未来制定出更为精准的治疗骨关节炎的疗法。

生物信息学是一门前沿的交叉学科，利用现代信息技术，以多层次、多方面的方式来揭示疾病分子机制。通过高效和直观地分析大量的生物数据，生物信息学能够提供深入且全面的认识。这门学科的发展不仅可以加速疾病的研究，还可以为医学领域的治疗和预防提供新的思路和方法。通过对骨关节炎相关的铁超载基因表达数据进行深入的生物信息学分析，并结合动物模型验证基因的关键作用，为发现新的治疗靶点和优化组织工程策略提供了分子层面的见解。生物信息学的分析结果揭示了铁超载与骨关节炎的发展之间的潜在联系，进而为构建更加有效的组织工程应用奠定了研究基础，包括但不限于铁平衡调控在骨关节炎治疗中的作用。这些发现进一步拓展了组织工程在骨关节炎干预中的应用范围，为未来的再生医学创新提供了新的视角。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 设计 生物信息学分析结合动物实验验证，独立样本 *t* 检验。

1.2 时间及地点 于 2023 年 5–9 月在贵州医科大学附属医院临床研究中心实验室完成。

1.3 材料

1.3.1 生物信息学数据库及数据分析工具 GeneCards 数据库 (https://www.genecards.org/)、GEO 数据库 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/)、R 软件 (版本 4.3.1)、Cytoscape 软件 (版本 3.10.1)、String 在线分析网站 (https://cn.string-db.org/) 及 GraphPad Prism 9 统计学软件。

1.3.2 实验动物 SPF 级健康雄性 8 周龄 SD 大鼠 12 只，生产许可证：SCXK (粤)2022-0063，购自广东维通利华实验动物技术有限公司，饲养于贵州医科大学附属医院临床研究中心的 SPF 级动物房 (大鼠饲养环境：室内温度为 20–26 ℃；日温差≤ 4 ℃；相对湿度为 40%–70%；换气次数为 15–20 次 /h；气流速度≤ 0.2 m/s；压强梯度为 20–50 Pa；空气洁净度为 7 级；菌落数≤ 3 个 / 皿；氨浓度≤ 14 mg/m^3；噪声≤ 60 dB；最低工作照度≥ 200 lx；动物照度：15–20 lx；昼夜明暗交替时间 12/12 h)，实验开始前适应性喂养 1 周。该研究通过了贵州医科大学实验动物伦理委员会动物伦理审核，审批号：2100521，审批时间：2021–03–02。

1.3.3 实验试剂 液氮；无水乙醇 (国药集团化学试剂有限公司)；EDTA 脱钙液 (G1105，武汉塞维尔生物科技有限公司)；二甲苯 (国药集团化学试剂有限公司)；通用型组织固定液 (G1101，武汉塞维尔生物科技有限公司)；苏木精 – 伊红染色试剂盒 (G1003，武汉塞维尔生物科技有限公司)；番红固绿 (骨组织) 染液套

装 (G1053，武汉塞维尔生物科技有限公司)；甲苯胺蓝染液 (G1032，武汉塞维尔生物科技有限公司)；总 RNA 提取试剂盒 (300111，北京宝日医生物技术有限公司)；反转录试剂盒 (R233-01，南京诺唯赞生物科技股份有限公司)；荧光定量试剂盒 (Q511-01，南京诺唯赞生物科技股份有限公司)；miRNA 反转录 / 荧光定量检测试剂盒 (PC6301，北京艾德莱公司)。

1.3.4 实验设备 小动物麻醉仪、脱水机 (Donatello，意大利 DIAPATH 公司)；包埋机 (JB-P5，武汉俊杰电子有限公司)；恒温摇床 (ZHPW-250，天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司)；组织摊片机 (KD-P，浙江省金华市科迪仪器设备有限公司)；冻台 (JB-L5，武汉俊杰电子有限公司)；病理切片机 (RM2016，上海徕卡仪器有限公司)；烤箱 (GFL-230，天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司)；正置光学显微镜 (NIKON ECLIPSE E100，日本尼康公司)；普通 PCR 仪 (Bio-Rad S1000，美国 Bio-Rad 公司)；冷冻离心机 (Thermo ThermoCL-31R，美国赛默飞世尔科技公司)；荧光定量 PCR 仪 (ABI Prism 7300，美国应用生物系统公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 筛选骨关节炎铁超载的关键基因

获取骨关节炎基因表达数据集： GEO 数据库由美国国立生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information，NCBI) 所管理和维护。这个数据库允许研究者访问全球研究社区收集的大规模表达数据，并进行数据的比对和分析。通过搜索关键词“osteoarthritis”在 GEO 数据库中得到一个名为 GSE55235 的骨关节炎基因芯片，其中包含了 10 例骨关节炎患者和 10 例健康人群的基因表达数据。为了确保筛选差异基因结果的显著性，使用 R 语言中的“limma”包，并且设定筛选条件为：差异表达基因的 |logFC| ≥ 1 和 *P* 值≤ 0.05，进行差异表达基因的筛选。这将有助于识别出与骨关节炎相关的显著差异表达基因。

交集得到骨关节炎铁超载基因： GeneCards 数据库是一个综合性数据库，包含了基因注释、预测和研究的多维度信息，由以色列的魏茨曼科学研究所 (Weizmann Institute of Science) 所创建。此数据库聚合和整合了来自约 150 个不同来源的基因中心数据，涵盖了基因组学、转录组学、蛋白质组学、遗传学、临床及功能信息等方面。以关键词“iron overload”在 GeneCards 数据库中进行检索，找到了与铁超载相关的基因。随后使用 R 软件的“VennDiagram”包进行交集分析，将铁超载相关基因和之前筛选出的骨关节炎差异表达基因进行交集。这一分析的目的在于找到同时在骨关节炎和铁超载中表达的基因，即骨关节炎铁超载相关基因。通过这一分析，将有助于揭示可能在骨关节炎和铁超载之间共享的分子机制和生物学过程。

GO 与 KEGG 途径富集分析： 富集分析是研究基因功能和生物过程的一种方法。常用的基因富集方法有 GO 和 KEGG，它们可以帮助研究者们更好地理解基因的功能和生物过程的调节机制。在疾病研究中，富集方法能够阐述疾病分子层面的机制，帮助研究者们深入了解疾病的发生发展机理。使用 R 语言的 clusterProfiler、DOSE 和 pathview 包处理骨关节炎铁超载相关基因，富集出与骨关节炎铁超载相关的生物过程及通路。最后，对富集结果进行可视化。

构建骨关节炎铁超载基因 PPI 网络： 为了研究骨关节炎铁超载相关基因之间的相互作用，使用 String 数据库进行蛋白质相互作用网络的构建。在构建过程中，设定综合得分≥ 0.4 分作为筛选条件，用以鉴定骨关节炎铁超载关键基因。

筛选骨关节炎铁过载 Hub 基因： Cytoscape 是一款用于网络分析和可视化的强大工具。拓扑分析是网络分析的一部分，可以帮助研究者们理解基因网络中的重要节点和模式。在 Cytoscape 中，可以使用 CytoHubba 插件提供的多种计算方法，包括 Betweenness，BottleNeck，Closeness，Stress 和 Degree 等。通过这些计算方法可以确定在基因网络中具有重要影响力的基因。采用这些方法筛选出两组排名前 10 的基因，并相互取交集，最终得到的 Hub 基因被认为是骨关节炎和铁超载的关键基因。

1.4.2 动物造模实验验证筛选出的 Hub 基因

骨关节炎 SD 大鼠造模： 使用改良 Hulth 方法来建立膝骨关节炎大鼠模型 [9]。选择 12 只雄性 SD 大鼠，随机分为对照组和骨关节炎组，每组 6 只。在适应性饲养了 1 周后，对骨关节炎组大鼠进行手术操作。手术步骤包括异氟烷吸入麻醉、剃除毛发、消毒、切开大鼠左膝关节髌骨内侧皮肤和关

组织工程实验动物造模过程中的相关问题	
造模目的	制造 SD 大鼠膝骨关节炎模型
选择动物的条件	雄性 SD 大鼠，8 周龄
模型与所研究疾病的关系	在动物骨关节炎模型中铁超载的关键基因可能存在有差异性表达
动物来源及品系	购自广东维通利华实验动物技术有限公司，生产许可证：SCXK(粤)2022-0063，SPF 级
造模技术描述	麻醉后剃除毛发、消毒、切开大鼠左膝关节髌骨内侧皮肤和关节囊，然后切断前交叉韧带并切除内侧半月板。为了确认前交叉韧带完全断裂，进行“前抽屉实验”
动物数量及分组方法	12 只，随机分为骨关节炎组 6 只与对照组 6 只
造模成功评价指标	观察造模后膝关节石蜡组织切片的病理染色结果，并参照 OARSI 的评分标准，对膝关节石蜡组织切片的染色结果进行评分统计，判断骨关节炎造模是否成功
造模后实验观察指标	① SD 大鼠膝关节的苏木精－伊红染色、番红 O– 固绿及甲苯胺蓝染色的病理学观察及 OARSI 评分；② ICAM-1，TNFSF11，MYC，JAK2、白细胞介素 6 在 SD 大鼠膝关节软骨样本中的相对表达量
造模后动物处理	造模后继续饲养，在术后 1 周时强制驱赶大鼠运动，每天 30 min，饲养至 8 周时，处死大鼠后，取下完整左下肢膝关节浸泡多聚甲醛固定后制备石蜡切片行苏木精－伊红染色、番红 O– 固绿、甲苯胺蓝染色，并取左膝软骨进行 PCR 检测
动物死亡原因	实验期间未发生动物死亡
伦理委员会批准	此动物实验已通过了贵州医科大学实验动物伦理委员会动物伦理审核 (审批号：2100521)

节囊，然后切断前交叉韧带并切除内侧半月板。为了确认前交叉韧带完全断裂，进行了“前抽屉实验”。而对照组大鼠则没有接受任何处理。通过该实验设计和操作过程，课题组能够模拟出膝骨关节炎的病理状态，并为后续研究奠定基础。随后，再经过8周的饲养后，取出大鼠左后肢完整的膝关节样本，分别进行病理学染色和PCR检测，以便后续进行相应的实验分析和数据处理。

大鼠膝关节的固定、脱钙及石蜡包埋切片：造模后8周，将SD大鼠异氟烷吸入麻醉后颈椎脱臼法处死，将取下的SD大鼠膝关节放入多聚甲醛溶液中固定48 h。随后，取出膝关节并修整多余的软组织。接下来，膝关节将被置于含有EDTA的脱钙液中，并通过放入恒温摇床进行脱钙处理。脱钙液将每隔两三天更换1次，保持温度在25–30 ℃，恒温摇床的速率调整在110–120 r/min。每隔2 d观察1次脱钙程度，如能够使用针扎进膝关节骨骼，则使用刀片沿矢状面将其剖开，以加快软化速度。软化好的膝关节组织经过流水冲洗后，在脱水吊篮中装入待处理组织，然后将其置于脱水机中，根据逐步增加的乙醇浓度进行脱水处理，依次使用以下乙醇浓度和时间：体积分数75%乙醇(2 h)、85%乙醇(2 h)、90%乙醇(1.5 h)、95%乙醇(2 h)、无水乙醇Ⅰ(2 h)、无水乙醇Ⅱ(2 h)、醇苯(40 min)、二甲苯Ⅰ(40 min)、二甲苯Ⅱ(40 min)、65 ℃熔化石蜡Ⅰ(0.5 h)、65 ℃熔化石蜡Ⅱ(1 h)、65 ℃熔化石蜡Ⅲ(2 h，45 min)。然后，将膝关节组织从石蜡浸泡中取出，放入包埋机中进行包埋。首先，在包埋框中放入已熔化的石蜡，然后从脱水盒中取出组织，根据包埋表面的要求，将其放入包埋框中，并贴上相应的标签。完成后，将包埋好的石蜡块放入冷冻台中，冷却至−20 ℃，使石蜡凝固。然后取出石蜡块并进行修整。将修整好的石蜡块放入石蜡切片机中，并进行切割，以获得厚度为4 μm的切片。随后将这些切片浸泡在40 ℃的温水中，以展平组织，并用玻片将组织抬起，以确保切片的平整和完整性。然后，将切片放入60 ℃的烘箱中，进行加热固化处理，以使切片固化并保持稳定。最后取出经过烤干处理的切片，并在常温下保存，以备后续的实验使用。

苏木精－伊红染色：首先，按照顺序将切片放入环保型脱蜡液Ⅰ中浸泡20 min，然后移入环保型脱蜡液Ⅱ中浸泡20 min。接下来，依次将切片放入无水乙醇Ⅰ5 min、无水乙醇Ⅱ5 min和体积分数75%的乙醇溶液5 min中浸泡，然后用自来水洗，以去除切片中的蜡质和其他杂质。接着，将切片放入苏木素染液中染色3–5 min，随后进行自来水洗、分化处理，并使用返蓝液进行返蓝。然后，将切片放入体积分数85%和95%梯度乙醇中各5 min进行脱水处理，接着放入伊红染液中染色。最后，将切片放入无水乙醇Ⅰ5 min、无水乙醇Ⅱ5 min、无水乙醇Ⅲ5 min、二甲苯Ⅰ5 min和二甲苯Ⅱ5 min透明化处理，最终使用中性树脂进行封固。完成上述步骤后，将进行显微镜观察，并采集和分析图像。

番红O−固绿染色：按照次序，先将切片放入环保型脱蜡透明液Ⅰ中浸泡20 min，接着放入环保型脱蜡透明液Ⅱ中再浸泡20 min。然后将切片依次放入无水乙醇Ⅰ中浸泡5 min，接着放入无水乙醇Ⅱ中浸泡5 min，最后放入体积分数75%乙醇浸泡5 min，然后进行自来水洗。接下来，将切片放入骨组织固绿染色液中，染色时间为1–5 min，去除多余染液后，直至软骨呈无色。将切片浸泡在1%盐酸乙醇中10 s，之后用自来水稍微洗涤。然后，将切片快速浸入骨组织番红染色液中1–5 s，按顺序将其置于四缸无水乙醇中进行迅速脱水，各持续5 s，2 s，10 s，最后在第4个缸进行镜检。切片经干净的二甲苯透明处理5 min后，使用中性树脂进行封片。完成上述步骤后，将进行显微镜镜检，采集和分析图像。

甲苯胺蓝染色：首先，按顺序将切片放入环保型脱蜡透明液Ⅰ(20 min)、环保型脱蜡透明液Ⅱ(20 min)、无水乙醇Ⅰ(5 min)、无水乙醇Ⅱ(5 min)和体积分数75%乙醇(5 min)，然后进行自来水洗。接着，将切片放入染液中浸泡5 min，然后进行水洗。若染色过深，在显微镜下控制染色程度后使用体积分数95%乙醇进行分化，接着使用无水乙醇和二甲苯进行快速脱水并透明化。最后，将切片放入干净的二甲苯中透明化5 min，再使用中性树脂进行封固。完成上述步骤后，将进行显微镜镜检，并采集和分析图像。

OARSI评分：使用国际骨关节炎研究学会(OARSI)的“软骨病理评价系统”，对每只大鼠膝关节的病理切片进行评价[10]。评分标准：软骨基质着色程度(−6分)、潮线是否完整(−1分)、关节软骨结构变形程度(−8分)、软骨细胞分布及数量(−3分)、及有无骨赘形成(−3分)，按此6项评估出各项得分后，相加得到总分，总分越高提示骨关节炎进展程度越重。

实时荧光定量PCR检测大鼠膝关节软骨组织Hub基因表达：首先，在液氮中将软骨组织研磨成细粉，然后使用Trizol裂解组织细粉并进行匀浆处理。接下来，加入0.2 mL氯仿，充分混匀，并静置3–5 min；在室温下以12 000 r/min离心10 min；小心地将上层水相转移到一个新的1.5 mL离心管中，避免取到中间层和下层溶液；加入等体积的异丙醇，混匀后在−20 ℃静置20 min；然后再次以12 000 r/min离心10 min，将上清液丢弃；使用1 mL体积分数75%乙醇洗涤沉淀，以12 000 r/min离心5 min；丢弃上清液，将沉淀风干3–5 min，然后溶解于50 mL的DEPC水中；在−80 ℃保存待用。根据反转录试剂盒说明书进行反转录操作以获得cRNA。接着，利用荧光PCR仪进行荧光定量PCR(采用荧光染料法)，使用AceQ® qPCR SYBR Green qPCR master mix进行实验步骤，以GAPDH作为内参。通过观察熔解曲线和扩增曲线来衡量结果，并使用ABI的DataAssist™ v3.0软件，使用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法进行结果分析。其中，ΔΔCt=骨关节炎组(Ct目的基因−Ct管家基因)−对照组(Ct目的基因−Ct管家基因)。相关基因引物序列见**表1**。

1.5 **主要观察指标** 骨性关节炎铁超载关键基因细胞间黏附分子1(intercellular cell adhesion molecule-1，ICAM-1)、肿瘤坏死因子配体超家族成员11(tumor necrosis factor superfamily member 11，TNFSF11)、骨髓瘤细胞癌基因

(myelocytomatosis oncogene，MYC)、Janus 激酶 2(janus kinase 2，JAK2) 及白细胞介素 6 的表达变化。

1.6 统计学分析 使用 GraphPad Prism 9 软件进行数据分析，计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 的形式呈现。采用独立样本 t 检验对两组间的定量数据进行比较，$P < 0.05$ 为差异有显著性意义。该文章统计学方法已由贵州医科大学生物统计学专家审核。

2 结果 Results

2.1 筛选骨关节炎的差异表达基因 对 GSE55235 数据集中的 10 例骨关节炎患者和 10 例健康人群的基因表达数据进行差异基因分析。通过筛选 P 值经过校正后小于 0.05 且 LogFC 的绝对值大于 1 的差异基因，共得到了 964 个差异基因，其中包括 366 个上调基因和 598 个下调基因。**图 1** 为差异表达基因火山图，**图 2** 为差异表达基因热图。

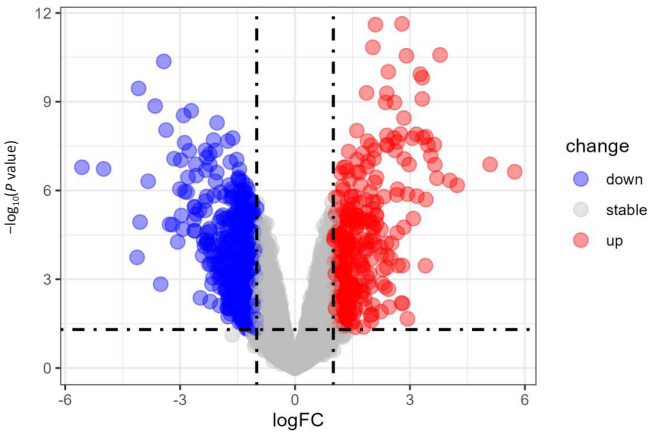
2.2 交集得到骨关节炎与铁超载相关基因 通过查询 GeneCards 数据库，得到了 831 个与铁超载相关的基因。与之前得到的骨关节炎差异基因进行交集分析后，发现有 51 个基因与骨关节炎和铁超载相关，见**图 3**。

2.3 GO 和 KEGG 富集分析结果 对 51 个与骨关节炎和铁超载相关的基因进行了 GO 和 KEGG 富集分析，发现骨关节炎铁超载基因在生物过程中主要参与白细胞迁移 (Leukocyte migration)、白细胞迁移的正向调控 (Positive regulation of leukocyte migration)、对肿瘤坏死因子的反应 (Response to tumor necrosis factor)、调节白细胞的迁移 (Regulation of leukocyte migration) 及白细胞与细胞的黏附 (Regulation of leukocyte migration) 过程；细胞成分显示其主要存在于包被囊泡 (Coated vesicle)、包被囊泡膜 (Coated vesicle membrane)、网格蛋白包被囊泡 (Clathrin-coated vesicle)、低-密度脂蛋白颗粒 (Low-density lipoprotein particle) 及乳糜微粒 (Chylomicron)；分子功能上，其在细胞因子受体结合 (Cytokine receptor binding)、趋化因子受体结合 (CCR chemokine receptor binding)、细胞因子活性 (Cytokine

表 1 | Hub 基因与内参基因 PCR 引物序列

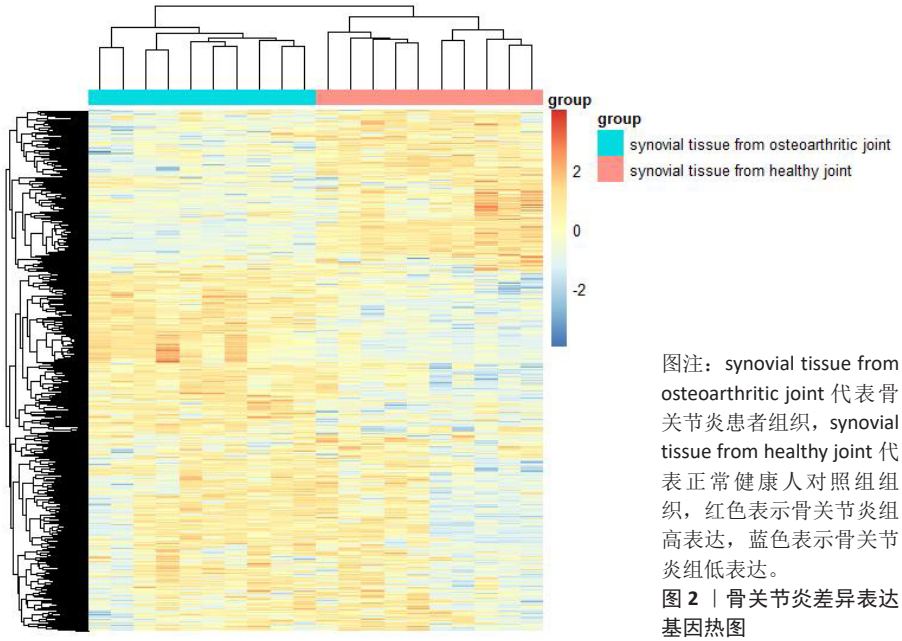
基因	引物序列 (5′-3′)	片段长度 (bp)
GAPDH F	GAC ATC AAG AAG GTG GTG AAG CAG	120
GAPDH R	GTC AAA GGT GGA GGA GTG GGT	
ICAM-1 F	AGG TAT CCA TCC ATC CCA CA	209
ICAM-1 R	GCC ACA GTT CTC AAA GCA CA	
TNFSF11 F	AGC CGA GAC TAC GGC AAG TA	208
TNFSF11 R	GCG CTC GAA AGT ACA GGA AC	
MYC F	CGA GCT GAA GCG TAG CTT TT	170
MYC R	CTC GCC GTT TCC TCA GTA AG	
JAK2 F	AGA TAT GCA AGG GCA TGG AG	205
JAK2 R	GTC AAG GAT TCG GGA GCA TA	
IL-6 F	CCG GAG AGG AGA CTT CAC AG	161
IL-6 R	ACA GTG CAT CAT CGC TGT TC	

表注：GAPDH 为甘油醛 -3- 磷酸脱氢酶；ICAM-1 为细胞间黏附分子 1；TNFSF11 为肿瘤坏死因子配体超家族成员 11；MYC 为骨髓瘤细胞癌基因；JAK2 为 Janus 激酶 2；IL-6 为白细胞介素 6；F 为正义链；R 为反义链。



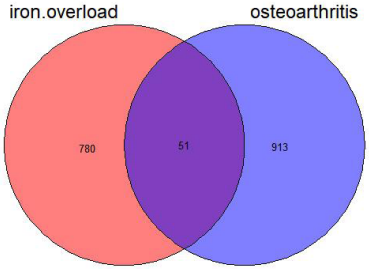
图注：横坐标代表 log(Fold Change)，纵坐标表示 $-\log_{10}(P$ 值)，上调 (up) 基因以红色圆点表示，下调 (down) 基因以蓝色圆点表示，而无明显差异 (stable) 的基因则以灰色圆点表示。

图 1 | 骨关节炎差异表达基因火山图



图注：synovial tissue from osteoarthritic joint 代表骨关节炎患者组织，synovial tissue from healthy joint 代表正常健康人对照组组织，红色表示骨关节炎组高表达，蓝色表示骨关节炎组低表达。

图 2 | 骨关节炎差异表达基因热图



图注：osteoarthritis 为骨关节炎，iron.overload 为铁超载，骨关节炎相关的基因以蓝色表示，铁超载相关的基因则以红色表示。两者的交集部分代表与骨关节炎和铁超载都有相关的基因。

图 3 | 骨关节炎相关基因与铁超载相关基因交集图

activity)、生长因子受体结合 (Growth factor receptor binding) 及寡糖结合 (Oligosaccharide binding) 中发生作用，见图 4。

根据 KEGG 富集分析结果显示，骨关节炎铁超载基因在肿瘤坏死因子信号通路 (TNF signaling pathway)、脂质和动脉粥样硬化 (Lipid and atherosclerosis)、人巨细胞病毒感染 (Human cytomegalovirus infection)、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路 (AGE-RAGE signaling pathway in diabetic Complications)，以及流体剪切应力和动脉粥样硬化 (Fluid shear stress and atherosclerosis) 中显著富集，见图 5。

2.4 构建 PPI 网络并筛选 Hub 基因

利用 String 数据库，构建了一个包含 40 个节点和 149 条边的共同疾病基因蛋白质相互作用网络，见图 6。随后进行网络拓扑分析，采用 5 种不同的计算方法筛选出了两组排名前 10 位的基因。最后通过对两组取交集取出了这 5 种计算方法中共同存在的基因，获得了 5 个具有重要作用的 Hub 基因，见图 7。

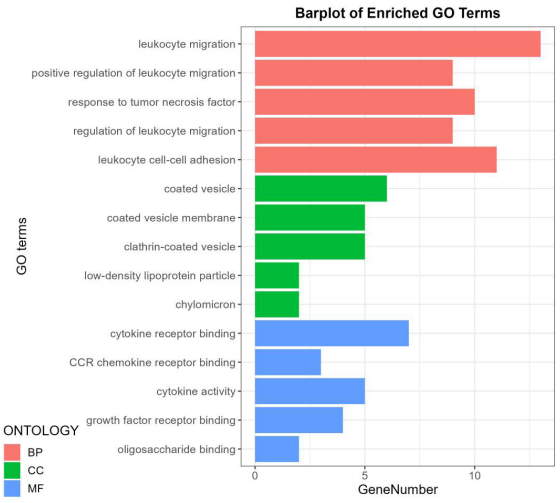
2.5 骨关节炎铁超载 Hub 基因动物实验验证结果

2.5.1 大鼠膝关节的病理学染色及 OARSI 评分 病理学切片染色结果见图 8，对照组中的软骨呈现出完好的形态和结构，细胞整齐排列，基质均匀染色；然而，在骨关节炎组中，软骨的形态结构已经被破坏，基质大量流失，并形成了空洞，软骨细胞也大量凋亡。骨关节炎组和对照组的 OARSI 评分分别为 (15.33±2.19) 分和 0 分，组间比较差异有显著性意义 ($P < 0.05$)，由此可判断 SD 大鼠的骨关节炎造模实验成功。

2.5.2 Hub 基因的相对表达量 Hub 基因在大鼠膝关节软骨样本的相对表达量见图 9，骨关节炎组中 ICAM-1，TNFSF11，MYC 和白细胞介素 6 基因相比于对照组呈高表达状态 ($P < 0.05$)，而 JAK2 基因相比于对照组呈低表达状态 ($P < 0.05$)。

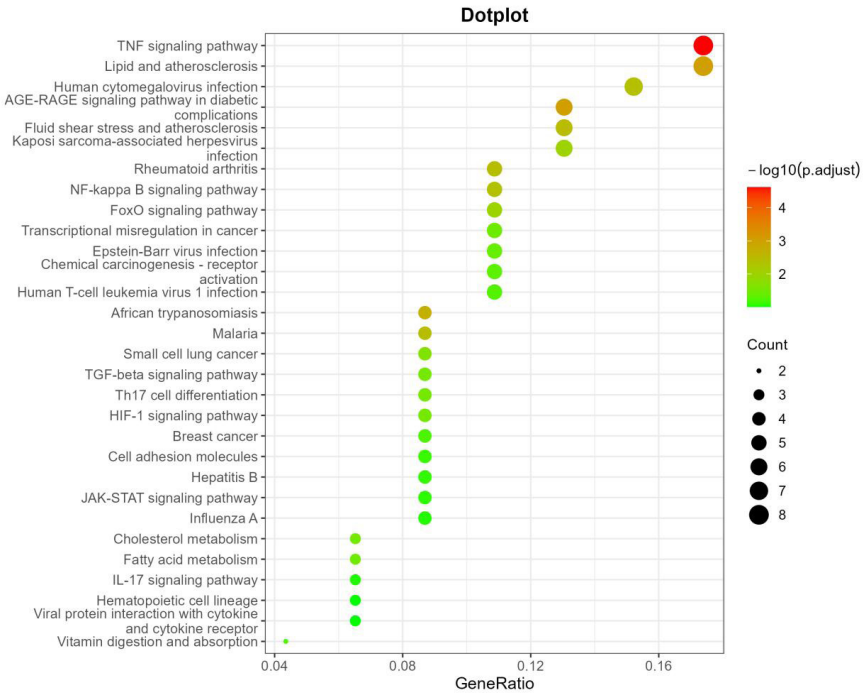
3 讨论 Discussion

骨关节炎是一种常见的关节疾病，其特征是整个关节组织的关节软骨损伤[11]。但是目前骨关节炎发病机



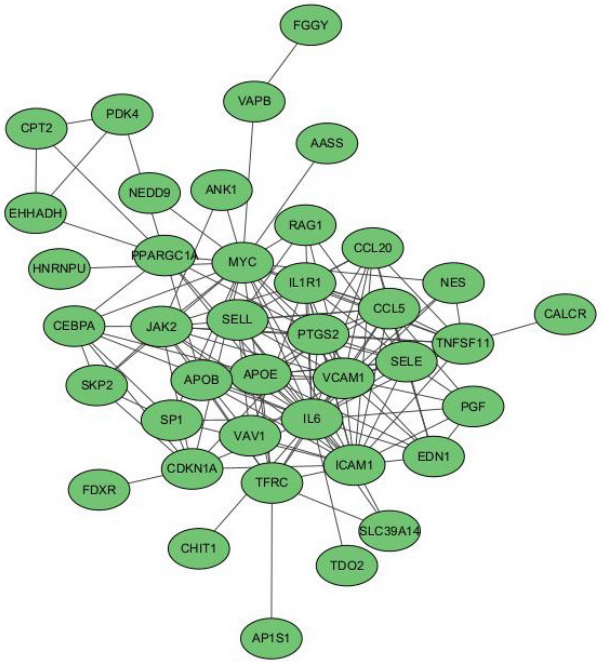
图注：BP 为生物过程，CC 为细胞组成，MF 为分子功能，均显示前 5 个显著富集结果。纵坐标代表 GO 富集分析结果，横坐标代表基因数目。Leukocyte migration 为白细胞迁移；Leukocyte migration 为白细胞迁移的正向调控；Leukocyte migration 为对肿瘤坏死因子的反应；Leukocyte migration 为调节白细胞的迁移；Leukocyte migration 为白细胞与细胞的黏附；Coated vesicle 为包被囊泡；Coated vesicle membrane 为包被囊泡膜；Clathrin-coated vesicle 为网格蛋白包被囊泡；Low-density lipoprotein particle 为低－密度脂蛋白颗粒；Chylomicron 为乳糜微粒；Cytokine receptor binding 为细胞因子受体结合；CCR chemokine receptor binding 为趋化因子受体结合；Cytokine activity 为细胞因子活性；Growth factor receptor binding 为生长因子受体结合；Oligosaccharide binding 为寡糖结合。

图 4 | GO 富集分析结果图



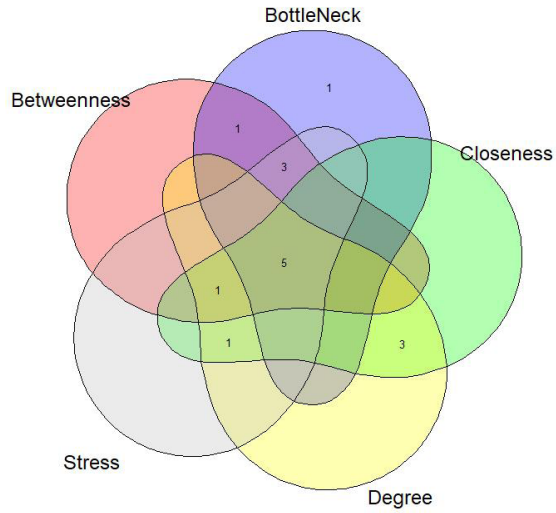
图注：纵坐标表示前 30 个显著富集的 KEGG 富集通路，横坐标表示基因比例。其富集途径的富集数目以气泡大小表示，显著性以颜色深浅表示。TNF signaling pathway 为肿瘤坏死因子信号通路；Lipid and atherosclerosis 为脂质和动脉粥样硬化；Human cytomegalovirus infection 为人巨细胞病毒感染；AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications 为糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路；Fluid shear stress and atherosclerosis 为流体剪切应力和动脉粥样硬化；Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection 为卡波西肉瘤－相关的疱疹病毒感染；Rheumatoid arthritis 为类风湿性关节炎；NF-kappa B signaling pathway 为 NF-kappaB 信号通路；FoxO 信号通路为 FoxO 信号通路；Transcriptional misregulation in cancer 为癌症中的转录失调；Epstein-Barr virus infection 为爱泼斯坦－巴拉病毒感染；Chemical carcinogenesis-receptor activation 为化学致癌作用－受体激活；Human T-cell leukemia virus 1 infection 为人 T－细胞白血病病毒 1 感染；African trypanosomiasis 为非洲锥虫病；Malaria 为疟疾；Small cell lung cancer 为小细胞肺癌；TGF-beta signaling pathway 为 TGF－信号通路；Th17 cell differentiation 为 Th17 细胞分化；HIF-1 signaling pathway 为缺氧诱导因子 1 信号通路；Breast cancer 为乳癌；Cell adhesion molecules 为细胞黏附分子；Hepatitis B 为乙型肝炎；JAK-STAT signaling pathway 为 JAK-STAT 信号通路；Influenza A 为甲型 H1N1 流感；Cholesterol metabolism 为胆固醇代谢；Fatty acid metabolism 为脂肪酸代谢；IL-17 signaling pathway 为白细胞介素 17 信号通路；Hematopoietic cell lineage 为造血细胞系；Viral protein interaction with cytokine and cytokine receptor 为病毒蛋白与细胞因子和细胞因子受体的相互作用；Vitamin digestion and absorption 为维生素消化吸收。

图 5 | KEGG 富集分析通路气泡图



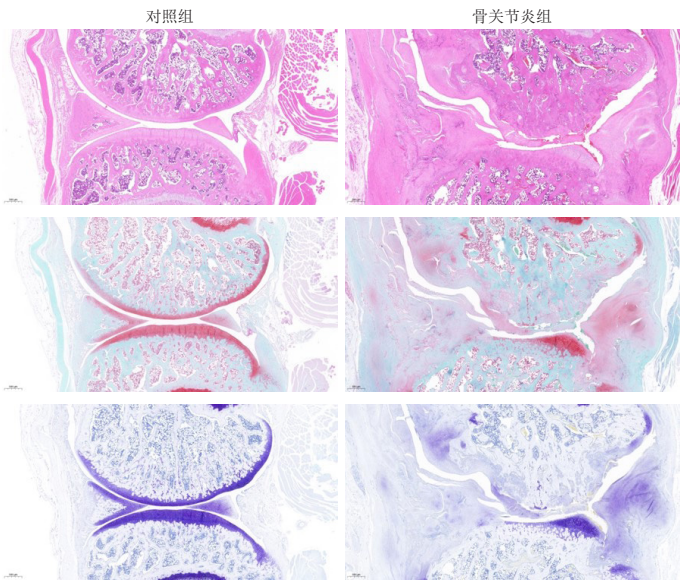
图注：节点上的边线越多，代表该基因在网络中越重要。ICAM-1 为细胞间黏附分子 1；TNFSF11 为肿瘤坏死因子配体超家族成员 11；MYC 为骨髓瘤细胞癌基因；JAK2 为 Janus 激酶 2；IL-6 为白细胞介素 6；VCAM-1 为血管细胞黏附分子 1；APOE 为脂蛋白 E 基因；PTGS2 为前列腺素内过氧化物合成酶 2；SELE 为选择素 E；SELL 为选择素 L。

图 6 | 骨关节炎铁超载基因的 PPI 网络图



图注：Degree 为度中心性；Closeness 为接近中心性；Betweenness 为中介中心性；Stress 为压力中心性；BottleNeck 为瓶颈中心性。图中数字代表该交集集合内的基因数目。

图 7 | 5 种拓扑学分析算法交集图

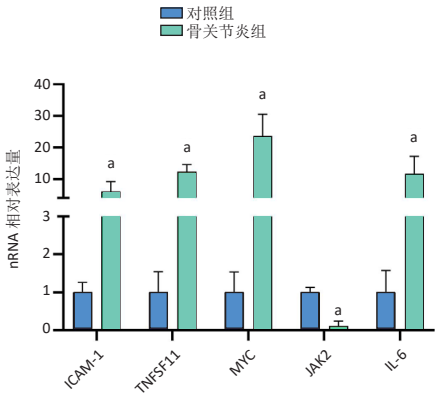


图注：对照组中的软骨呈现出完好的形态和结构，细胞整齐排列，基质均匀染色；然而，在骨关节炎组中，软骨的形态结构已经被破坏，基质大量流失，并形成了空洞。

图 8 | 造模后 8 周两组 SD 大鼠膝关节病理学染色结果 (×20)

制尚未完全研究清楚，虽然有很多治疗方案，但并未研究出根治的方法[12]。因此探索骨关节炎的发病机制是当前研究的关键。铁超载是指循环系统和组织中多余铁的积累，可引起各种组织和器官的病理改变[13]。铁超载的发生通常也会导致骨关节炎的表型的出现（如进行性软骨侵蚀、软骨下骨微结构改变、生物力学及持续性关节炎症）有关[14]。然而，目前对于骨关节炎与铁超载之间相关的作用机制仍未探索完善。因此基于生物信息学筛选骨关节炎铁超载差异基因，对于研究骨关节炎相关的铁超载的分子机制有着重要的意义。

实验通过在 GEO 和 GeneCards 数据库中各自挑选出与骨关节炎和铁超载相关的基因，经过交集分析后获得了 51 个差异基因。再将 51 个骨关节炎铁超载基因经过 GO 富集分析后，表明其在生物过程中主要集中于白细胞迁移、白细胞迁移的正向调控和对肿瘤坏死因子的反应、调节白细胞的迁移及白细胞与细胞的黏附等过程，这 5 个过程都与慢性炎症反应有关，这也正是骨关节炎的重要特征[15]。首先，白细胞迁移和其正向调控是炎症反应的一个重要环节，当身体发生炎症时，白细胞会被募集到炎症部位[16]，其中正向调控白细胞迁移的趋化因子在骨关节炎中扮演了重要角色[17]。其次，对肿瘤坏死因子的反



图注：经归一化处理，对照组目标基因相对表达量为 1，与对照组相比，$^{a}P < 0.05$。ICAM-1 为细胞间黏附分子 1；TNFSF11 为肿瘤坏死因子配体超家族成员 11；MYC 为骨髓瘤细胞癌基因；JAK2 为 Janus 激酶 2；IL-6 为白细胞介素 6。骨关节炎组中 ICAM-1，TNFSF11，MYC，IL-6 基因相比于对照组呈高表达状态，而 JAK2 基因相比于对照组呈低表达状态。

图 9 | Hub 基因相对表达量柱状图

应也与炎症反应密切相关。肿瘤坏死因子α是最有效的促炎性细胞因子之一，它能推动骨关节炎的进展和慢性关节疼痛[18]。调控肿瘤坏死因子的活性可能是治疗骨关节炎的一种有效方式。最后，白细胞与细胞的黏附也会影响到炎症的程度和进展。ICAM-1已被认为是导致病变关节内组织粘连，关节活动僵硬的主要因素之一[19]。对这些过程的深入理解和研究，可以为防治骨关节炎提供新的治疗策略。

细胞成分主要涉及包被囊泡、包被囊泡膜及网格蛋白包被囊泡等，在分子功能上，这些基因主要涉及细胞因子受体结合、趋化因子受体结合等。在骨关节炎中，促炎递质(如细胞因子和趋化因子)在疾病发展中起核心作用，它们可以促使软骨细胞产生降解酶从而抑制其合成代谢活性[20]。说明可以通过改变促炎递质的状态来减缓炎症的发展，调节软骨细胞状态，改善骨关节炎的进展。

KEGG富集分析结果显示，骨关节炎铁超载基因在肿瘤坏死因子信号通路、脂质和动脉粥样硬化、糖尿病并发症中的AGE-RAGE信号通路等方面表现出显著的富集。首先肿瘤坏死因子信号通路被证明对骨关节炎的发展具有重要影响。肿瘤坏死因子α是一种促炎性细胞因子，能够促进炎症反应并加重骨关节炎的病程。肿瘤坏死因子信号通路来影响JNK蛋白激酶的激活以及caspase家族介导的细胞凋亡，影响骨关节炎的发展[21]。其次动脉粥样硬化的危险因素，如年龄、肥胖和脂质代谢改变与骨关节炎是共同的。动脉粥样硬化性血管疾病与骨关节炎的进展有关[22]。并且已有研究发现AGE-RAGE信号通路的失调可能是年龄相关的骨关节炎的驱动因素[23]。通过研究这些通路，可能为骨关节炎发病机制的解释提供了新的角度。

进一步利用网络拓扑学分析与交集分析，最终得出了5个Hub基因：ICAM-1，TNFSF11，MYC，JAK2、白细胞介素6；PCR检测结果显示，在SD大鼠膝骨关节炎软骨组织中ICAM-1，TNFSF11，MYC及白细胞介素6基因呈高表达，JAK2基因呈低表达，这5个基因与骨关节炎与铁超载有着紧密的联系。铁超载状态可以刺激核转录因子κB通路，增加ICAM-1表达[24]。而ICAM-1是骨关节炎疾病期间的关键黏附分子[25]，参与白细胞的迁移、黏附和功能调整。并且能推动单核细胞在滑膜组织的凝聚，并参与软骨的损伤进程[26]。TNFSF11是负责破骨细胞分化和活化的关键因子，可以调节骨密度。处于铁超载状态的骨细胞表达高水平的TNFSF11[27]。而TNFSF11在骨关节炎中显著上调，减少TNFSF11的表达可以缓解骨关节炎软骨退化的进展[28]。C-MYC是MYC家族的成员，过量铁的处理可以影响小鼠体内C-MYC的表达[29]。并且C-MYC通过降低软骨细胞的谷氨酰胺代谢水平，从而减缓骨关节炎的发展进程[30]。已有研究证实饮食诱导的铁代谢异常，可能通过JAK2/STAT3途径激活炎症[31]。JAK2/STAT3途径也已被证实在骨关节炎的软骨降解、软骨下骨功能障碍和滑膜炎症中的发挥作用[32]。白细胞介素6在许多炎症性疾病中是一个被充分研究的有效因子。而铁与炎症密切相关，在炎症期间，高水平的白细胞介素6导致可导致铁转运蛋白的降解。铁转运蛋白降解导致铁外排减少，最终导致细胞内铁浓度升高，从而导致细胞和组织中的铁毒性[33]。此外，白细胞介素6在骨关节炎中异常过表达。白细胞介素6的高表达与严重的骨关节炎状态息息相关[34]。这5个基因在骨关节炎和铁超载中扮演着重要角色，研究它们的表达和调控为找到新的骨关节炎治疗策略提供了可能性。

综上所述，经过生物信息学分析及动物模型实验的验证，研究指出，在SD大鼠膝骨关节炎模型中，ICAM-1，TNFSF11，MYC，JAK2及白细胞介素6基因的表达表现出显著变化。这5个基因的表达的差异性表明它们有潜力作为骨关节炎铁超载的生物标志物物，为骨关节炎的研究及治疗提供了新的靶点，这些结果也为理解骨关节炎的病理机制提供了新的视角。然而，需要注意的是，实验仅利用有限的数据库资源，可能存在数据不充足和偏倚性，需要更广泛和多样化的数据源来增强研究的泛化性。此外，虽然动物模型提供了疾病病理的有价值见解，但动物实验所模拟的特定病理状态无法完全反映人类复杂的内在生理过程。样本容量的局限也可能影响研究结论的稳健性。未来的研究应当采用更多的数据源、增加样本多样性，并结合更复杂的实验设计与验证，以提高研究结果的可靠性。

在临床转化方面，实验的发现可能具有重要意义，尤其是在开发新的诊断工具、靶向治疗和预防策略方面。例如，如果这些基因在人类骨关节炎铁超载患者中的表达也表现出类似模式，则这些基因或其蛋白质产品可能有望成为新的血液或体液生物标志物，帮助早期诊断和跟踪疾病进展。此外，基于这些关键基因的开发药物可能会开发出针对骨关节炎的新疗法，特别是在相关铁超载环境下。然而，将基因发现直接转化为临床应用仍需要广泛的临床前和临床后研究，来确认这些潜在生物标志物的敏感性、特异性以及对患者管理的直接影响。因此，这些潜在的靶点和生物标志物的发现是骨关节炎研究领域的一个重要步骤，但仍需经历多个研究阶段以实现其在临床实践中的应用。

作者贡献：文章由邓柯淇撰写。GOSWAMI ASHUTOSH负责资料收集和数据分析。李光第负责实验设计和文章评估。刘星余负责病理学切片染色。何孝勇参与SD大鼠骨关节炎造模和PCR检测工作。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

出版规范：该文章撰写遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。文章经小同行外审专家双盲外审，同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

[1] HUNTER DJ, MARCH L, CHEW M. Osteoarthritis in 2020 and beyond: a Lancet Commission. Lancet. 2020;396(10264): 1711-1712.

[2] TAMPIERI A, SANDRI M, IAFISCO M, et al. Nanotechnological approach and bio-inspired materials to face degenerative diseases in aging. Aging Clin Exp Res. 2021; 33(4):805-821.

[3] KATZ JN, ARANT KR, LOESER RF. Diagnosis and treatment of hip and knee osteoarthritis: a review. JAMA. 2021;325(6): 568-578.

[4] CAMASCHELLA C, NAI A, SILVESTRI L. Iron metabolism and iron disorders revisited in the hepcidin era. Haematologica. 2020; 105(2):260-272.

[5] BRISSOT P, TROADEC MB, LORÉAL O, et al. Pathophysiology and classification of iron overload diseases; update 2018. Transfus Clin Biol. 2019;26(1):80-88.

[6] 黎少聪 , 何琪 , 潘兆丰 , 等 .Micro-CT 评价铁超载影响膝骨关节炎模型小鼠软骨类组织的变化 [J]. 中国组织工程研究 , 2023,27(29):4658-4663.

[7] CAI C, HU W, CHU T. Interplay between iron overload and osteoarthritis: clinical significance and cellular mechanisms. Front Cell Dev Biol. 2021;9:817104.

[8] BURTON LH, RADAKOVICH LB, MAROLF AJ, et al. Systemic iron overload exacerbates osteoarthritis in the strain 13 guinea pig. Osteoarthritis Cartilage. 2020;28(9): 1265-1275.

[9] WANG J, CHEN L, JIN S, et al. MiR-98 promotes chondrocyte apoptosis by decreasing Bcl-2 expression in a rat model of osteoarthritis. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai). 2016;48(10):923-929.

[10] PRITZKER KP, GAY S, JIMENEZ SA, et al. Osteoarthritis cartilage histopathology: grading and staging. Osteoarthritis Cartilage. 2006;14(1):13-29.

[11] HU F, HU W, XU H. Schisandrin B alleviates LPS induced mitochondrial damage in C28I2 cells. J Membr Biol. 2024. doi:10.1007/s00232-023-00299-5.

[12] OO WM. Prospects of disease-modifying osteoarthritis drugs. Clin Geriatr Med. 2022;38(2):397-432.

[13] RADUSHKEVITZ-FRISHMAN T, CHARNI-NATAN M, GOLDSTEIN I. Dynamic chromatin accessibility during nutritional iron overload reveals a BMP6-independent induction of cell cycle genes. J Nutr Biochem. 2023; 119:109407.

[14] SIMÃO M, GAVAIA PJ, CAMACHO A, et al. Intracellular iron uptake is favored in Hfe-KO mouse primary chondrocytes mimicking an osteoarthritis-related phenotype. Biofactors. 2019;45(4):583-597.

[15] GUILLEM-LLOBAT P, MARÍN M, ROULEAU M, et al. New insights into the pro-inflammatory and osteoclastogenic profile of circulating monocytes in osteoarthritis patients. Int J Mol Sci. 2024;25(3):1710.

[16] KOURTZELIS I, MITROULIS I, VON RENESSE J, et al. From leukocyte recruitment to resolution of inflammation: the cardinal role of integrins. J Leukoc Biol. 2017;102(3): 677-683.

[17] WANG Z, WANG B, ZHANG J, et al. Chemokine (C-C Motif) ligand 2/chemokine receptor 2 (CCR2) axis blockade to delay chondrocyte hypertrophy as a therapeutic strategy for osteoarthritis. Med Sci Monit. 2021;27:e930053.

[18] WANG R, LI J, XU X, et al. Andrographolide attenuates synovial inflammation of osteoarthritis by interacting with tumor necrosis factor receptor 2 trafficking in a rat model. J Orthop Translat. 2021;29:89-99.

[19] 韩建建 , 徐鹏 , 韩礼纲 , 等 . 关节镜清理术联合透明质酸钠对膝骨关节炎病人关节液细胞间黏附分子 1、白细胞介素 6 的影响 [J]. 蚌埠医学院学报 ,2021,46(2): 222-225.

[20] SCALZONE A, CERQUENI G, WANG XN, et al. A cytokine-induced spheroid-based in vitro model for studying osteoarthritis pathogenesis. Front Bioeng Biotechnol. 2023;11:1167623.

[21] WANG Y, LIU J, HUANG B, et al. Mathematical modeling and application of IL-1β/TNF signaling pathway in regulating chondrocyte apoptosis. Front Cell Dev Biol. 2023;11:1288431.

[22] HEIDARI B, BABAEI M, YOSEFGHAHRI B. Prevention of osteoarthritis progression by statins, targeting metabolic and inflammatory aspects: a review. Mediterr J Rheumatol. 2021;32(3):227-236.

[23] IIJIMA H, GILMER G, WANG K, et al. Meta-analysis integrated with multi-omics data analysis to elucidate pathogenic mechanisms of age-related knee osteoarthritis in mice. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2022;77(7):1321-1334.

[24] ALVARADO-DÍAZ CP, NÚÑEZ MT, DEVOTO L, et al. Iron overload-modulated nuclear factor kappa-B activation in human endometrial stromal cells as a mechanism postulated in endometriosis pathogenesis. Fertil Steril. 2015;103(2):439-447.

[25] LEE KT, SU CH, LIU SC, et al. Cordycerebroside A inhibits ICAM-1-dependent M1 monocyte adhesion to osteoarthritis synovial fibroblasts. J Food Biochem. 2022;46(7):e14108.

[26] LI M, XIAO YB, WANG XT, et al. Proline-serine-threonine phosphatase-interacting protein 2 alleviates diabetes mellitus-osteoarthritis in rats through attenuating synovial inflammation and cartilage injury. Orthop Surg. 2021;13(4):1398-1407.

[27] CHANKAMNGOEN W, KRUNGCHANUCHAT S, THONGBUNCHOO J, et al. Extracellular Fe(2+) and Fe(3+) modulate osteocytic viability, expression of SOST, RANKL and FGF23, and fluid flow-induced YAP1 nuclear translocation. Sci Rep. 2023;13(1):21173.

[28] PAN L, YANG F, CAO X, et al. Identification of five hub immune genes and characterization of two immune subtypes of osteoarthritis. Front Endocrinol (Lausanne). 2023;14:1144258.

[29] MANDALA A, CHEN WJ, ARMSTRONG A, et al. PPARα agonist fenofibrate attenuates iron-induced liver injury in mice by modulating the Sirt3 and β-catenin signaling. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2021;321(4):G262-G269.

[30] JIANG K, JIANG T, CHEN Y, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes modulate chondrocyte glutamine metabolism to alleviate osteoarthritis progression. Mediators Inflamm. 2021; 2021:2979124.

[31] WANG C, WANG X, SONG G, et al. A high-fructose diet in rats induces systemic iron deficiency and hepatic iron overload by an inflammation mechanism. J Food Biochem. 2021;45(1):e13578.

[32] CHEN B, NING K, SUN ML, et al. Regulation and therapy, the role of JAK2/STAT3 signaling pathway in OA: a systematic review. Cell Commun Signal. 2023;21(1):67.

[33] DI PAOLA A, TORTORA C, ARGENZIANO M, et al. Emerging roles of the iron chelators in inflammation. Int J Mol Sci. 2022;23(14):7977.

[34] HE J, WANG L, DING Y, et al. lncRNA FER1L4 is dysregulated in osteoarthritis and regulates IL-6 expression in human chondrocyte cells. Sci Rep. 2021;11(1): 13032.

(责任编辑：WJ，ZN，WL，LJY)