

• 论 著 •

骨关节炎滑膜组织衰老相关生物标志物的筛选及免疫细胞浸润分析

张稀峰¹, 黄锋庆¹, 林海滨^{2△}

(莆田学院附属医院: 1. 急诊科; 2. 骨科, 福建 莆田 351100)

[摘要] **目的** 利用生物信息学方法筛选和验证骨关节炎(OA)滑膜组织衰老相关诊断标志物。**方法** 从 GEO 数据库获取 GSE206848、GSE55235 和 GSE55457 3 个骨关节滑膜组织数据集, 筛选出 GSE206848 差异表达基因(DEGs), 从 CellAge 数据库获取衰老相关基因(SRGs), 将 DEGs 和 SRGs 取交集, 获得衰老相关差异表达基因(DESrgs), 进行基因本体(GO)、京都基因和基因组百科全书(KEGG)分析和使用 STRING 在线数据库及 Cytoscape 软件进行蛋白互作网络(PPI)分析, 再利用 CytoHubba 插件结合随机森林算法筛选出 SRGs, 进行曲线下面积(AUC)预测值和基因表达水平的验证, 并通过 GSE55235 和 GSE55457 数据集对关键基因进行验证, 通过 CIBERSORT 进行免疫浸润分析。**结果** 最终得到 30 个 DESrgs, GO 富集在 RNA 聚合酶 II 的调控转录调控、核质、蛋白结合等过程, KEGG 主要富集在信号通路“细胞衰老、内分泌抵抗、乳腺癌”等通路上, SNAI1、NOX4、DHX9 为滑膜细胞衰老相关诊断标志物。OA 滑膜组织含有较少的静息记忆 CD4⁺ T 细胞($P=0.007$), 且诸多免疫细胞间存在相关性($P<0.05$)。诊断标志物 NOX4 与多种免疫细胞存在相关性($P<0.05$)。**结论** 利用生物信息学分析筛选出 OA 滑膜组织衰老相关诊断标志物, 发掘免疫细胞浸润情况及与诊断标志物间的关系, 有助于了解 OA 的发病机制和为未来的靶向治疗提供研究方向。

[关键词] 生物信息学; 骨关节炎; 滑膜组织; 衰老相关基因

DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2024.19.005

中图法分类号: R684.3

文章编号: 1009-5519(2024)19-3264-07

文献标识码: A

Screening of senescence-related biomarkers and analysis of immune cell infiltration in synovial tissue of osteoarthritis

ZHANG Xifeng, HUANG Fengqing, LIN Haibin[△]

(1. Department of Emergency; 2. Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Putian University, Putian, Fujian 351100, China)

[Abstract] **Objective** To screen and validate the aging-related diagnostic markers of synovial tissue in osteoarthritis (OA) by bioinformatics methods. **Methods** GSE206848, GSE55235 and GSE554573 datasets of bone and joint synovial tissue were obtained from Gene Expression Omnibus (GEO) database and GSE206848 differentially expressed genes (DEGs) were screened. Senescence-associated genes (SRGs) were downloaded from the CellAge database. Differentially expressed senescence-related genes (DESrgs) were obtained by intersection of DEGs and SRGs. Gene Ontology (GO), Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) were analyzed, and protein-protein interaction (PPI) was analyzed by using STRING online database and Cytoscape software. The predicted area under curve (AUC) value and gene expression level were verified. The key genes were verified by GSE55235 and GSE55457 datasets, and the immune infiltration analysis was performed by CIBERSORT. **Results** Finally, 30 DESrgs were obtained. GOs were enriched in the regulation of transcription regulation, nucleoplasm and protein binding of RNA polymerase II, while KEGGs were mainly enriched in the signaling pathways such as “cellular senescence, endocrine resistance, and breast cancer”. SNAI1, NOX4 and DHX9 were identified as synovial cell senescence-related diagnostic genes. OA synovial tissue contained fewer resting memory CD4⁺ T cells ($P=0.007$), and there was a correlation between immune cells ($P<0.05$). Diagnostic marker NOX4 was correlated with a variety of immune cells ($P<0.05$). **Conclusion** Bioinformatics analysis is used to screen out the diagnostic markers related to synovial aging in OA, which is helpful to understand the pathogenesis of OA and provide research directions for targeted therapy in the future.

[Key words] Bioinformatics; Osteoarthritis; Synovial tissue; Senescence-related genes

骨关节炎(OA)是世界上最常见的关节疾病,是老年人致残的主要原因,随着人口老龄化的发展这种趋势逐渐加剧^[1]。全球超过 5 亿的人口受到 OA 的影响,给个人和社会带来沉重的负担^[2-3]。因此,早期的诊断和治疗,对延缓 OA 的发展和改善关节的功能至关重要。

细胞衰老是一种细胞状态,其特征是永久性细胞周期停滞、抗细胞凋亡和持续分泌衰老相关分泌表型(SASP)因子^[4]。OA 是一种与年龄相关的退行性疾病,与衰老细胞的慢性积累有关^[5-6],OA 患者滑膜和软骨细胞中发现大量衰老细胞的积累^[7]。目前较多的研究在于关注软骨细胞的衰老^[8-9],而最新研究表明滑膜细胞的衰老早于软骨细胞的衰老和退化,且程度重于软骨细胞,衰老的滑膜细胞导致软骨功能障碍促进 OA 的进展^[5]。因此有必要从滑膜细胞衰老的角度分析 OA 的发病机制和诊断标志物,这可能是 OA 治疗潜在的靶点。

从 GEO 数据库下载 OA 患者数据集,筛选出差异表达基因(DEGs),之后 CellAge 数据库下载的衰老相关基因(SRGs)取交集,获得衰老相关差异表达基因(DESRGs),对 DESRGs 进行富集分析及蛋白互作网络(PPI)分析,筛选出诊断标志物,并研究其相关免疫浸润分析。旨通过寻找 OA 滑膜组织的衰老基因,探讨 OA 中衰老的相关机制及为 OA 的诊断和治疗提供更多的策略。

1 材料与方法

1.1 数据收集 从 GEO 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)获取骨关节滑膜组织微阵列数据集 GSE206848、GSE55235 和 GSE55457, GSE206848 数据集作为实验数据集, GSE55235、GSE55457 作为验证数据集。从 CellAge 在线数据库(<https://genomics.senescence.info/cells/>)获取 SRGs。

1.2 DEGs 分析 使用 GEO2R Analysis 对 OA 和健康的滑膜组织进行差异分析,计算 P 值和 $\log_{2}FC$ 值,限定 $P<0.05$ 和 $|\log_{2}FC|>1$ 为 DEGs, DEGs 和 SRGs 的交集,获得 DESRGs。

1.3 基因富集分析 使用 DAVID 在线分析功能(<https://david.ncifcrf.gov/>, 版本 2023q1)对筛选出的 DESRGs 进行基因本体(GO)和京都基因和基因组百科全书(KEGG)富集分析。GO 富集分析涵盖基因功能的 3 个不同方面,包括生物过程(BP)、细胞组分(CC)和分子功能(MF)。

1.4 PPI 分析及筛选衰老关键基因 应用 STRING 数据库(<https://string-db.org/>)构建 PPI 网络以获得数据结果,然后导入到软件 Cytoscape v 3.9.1 中,基于构建的 PPI 网络, CytoHubba 插件 degree 模式下识别出排名前 10 的基因,再结合随机森林算法对 10 个基因进行筛选,限定排名前 5 的为衰老关键基因。

1.5 诊断标志物的鉴定 为了筛选诊断标志物,对筛选出的关键基因采用 SPSS 进行受试者操作特征(ROC)曲线分析,并计算曲线下面积(AUC),以确定关键基因的预测值。使用 $AUC\geq 0.700$ 的标准从实验数据集和验证数据集中选择诊断标志物,对筛选出的诊断标志物进行联合诊断预测诊断价值,并且进行基因表达水平的验证, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

1.6 免疫浸润分析 通过 CIBERSORT 对数据集 GSE206848 进行免疫浸润分析,研究正常与 OA 滑膜组织中的 22 种免疫细胞浸润情况,分析 OA 滑膜免疫细胞浸润间的相关性进行 Pearson 分析,并对诊断标志物和浸润的免疫细胞进行多元线性回归分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DESRGs 的筛选 GSE206848 数据集共检测到 1 702 个 DEGs, 包含 1 150 个上调和 552 个下调的 DEGs(图 1), 将 DEGs 与 CellAge 在线数据库获得的 279 个 SRGs 取交集, 获得了 30 个 DESRGs(图 2、3)。

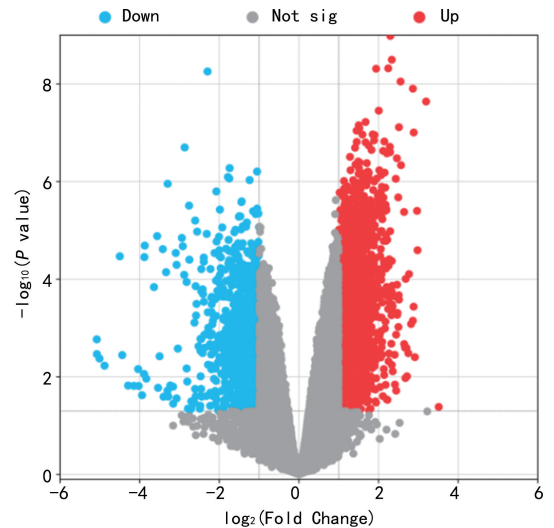


图 1 DEGs 火山图

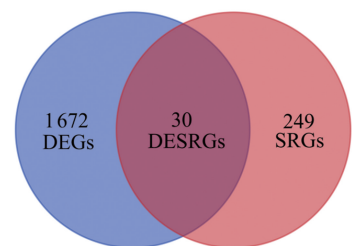


图 2 DESRGs 筛选基于韦恩图

2.2 DESRGs 功能富集分析 对 GO 和 KEGG 富集的结果,按 $P<0.05$ 进行筛选, BP 基因富集主要在 GO:0045944~RNA 聚合酶 II 启动子转录的正调控、GO:0000122~RNA 聚合酶 II 启动子转录的负调控、GO:0030900~前脑发育、GO:0006357~RNA 聚合酶 II 启动子转录的调控、GO:0048146~成纤维细胞增殖的正调控。CC 主要富集在 GO:0005654~核质、

GO:0005634~细胞核、GO:0005737~细胞质、GO:0000785~染色质、GO:0035189~Rb-E2F 复合物。MF 主要富集在 GO:0005515~蛋白质结合、GO:0003700~转录因子活性、序列特异性 DNA 结合、GO:0000978~RNA 聚合酶 II 核心启动子近端区序列特异性 DNA 结合、GO:0061629~RNA 聚合酶 II 序列特异性 DNA 结合转录因子结合、GO:0019900~激酶结合(图 4)。KEGG 分析主要富集在 hsa01522:内分泌抵抗、hsa05219:膀胱癌、hsa05224:乳腺癌、hsa04218:细胞衰老、hsa05225:肝细胞癌等信号通路(图 5)。

2.3 PPI 分析及 SRGs 筛选 使用 STRING 在线数据库对 30 个 DESRGs 进行 PPI 分析,其中包含 30 个节点数和 33 条边(图 6),再利用 Cytoscape 软件对 PPI 结果进行可视化分析,在 CytoHubba 插件 degree 模式筛选出前 10 个基因分别为 SRC、SERPINE1、SNAI1、SRSF1、WNT2、NOX4、EWSR1、SOCS1、NFE2L2、DHX9(图 7)。对这 10 个基因进行随机森林分析,根据基尼系数排在前 5 的基因为 NFE2L2、

DHX9、SNAI1、NOX4、SRSF1(图 8)。

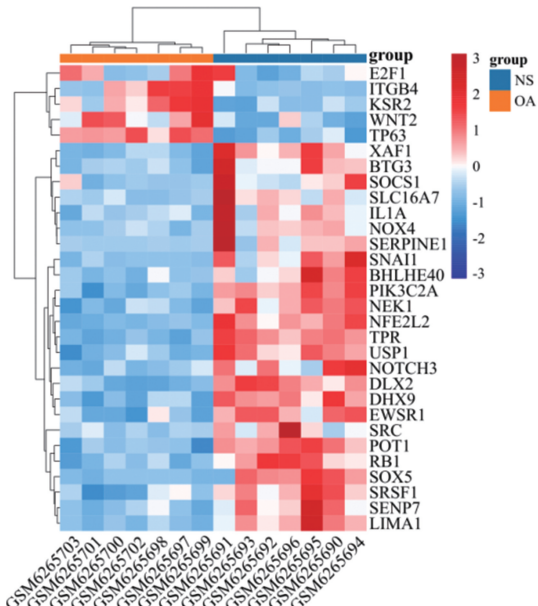
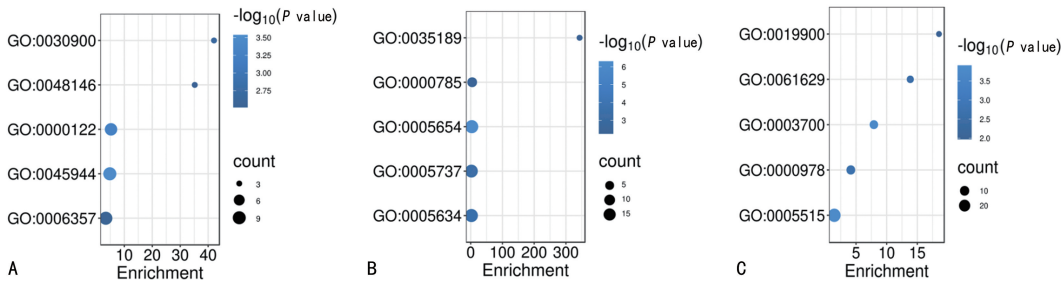


图 3 DESRGs 热图



注:A. BP;B. CC;C. MF。

图 4 GO 生物功能富集分析

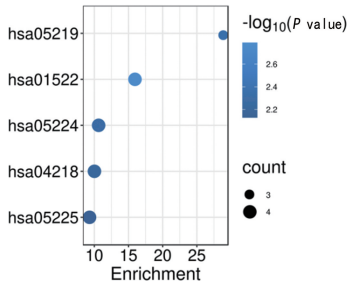


图 5 KEGG 通路富集分析

2.4 衰老相关诊断标志物的鉴定和验证 通过 ROC 曲线评价 5 个关键基因的诊断价值,结果显示, GSE206848 所有关键基因的 AUC 均大于 0.90,其中 SNAI1、DHX9、NFE2L2 的 AUC 值均为 1.00,其次是 SRSF1、NOX4 的 AUC 值为 0.98;所有关键基因表达水平差异均有统计学意义($P<0.05$)。在验证集中,进一步验证了基因表达水平和诊断价值。GSE55235 数据集中 SNAI1、SRSF1、NOX4、DHX9 基因 AUC 值大于 0.70,但只有 SNAI1、NOX4、DHX9 基因表达水平差异有统计学意义($P<0.05$)。GSE55457 数据集中 SNAI1、NOX4、DHX9 基因

AUC 值大于 0.70,其表达水平差异有统计学意义($P<0.05$)。最后,筛选了实验数据集和验证数据集的重叠基因作为诊断标志物:SNAI1、NOX4 和 DHX9($AUC>0.70, P<0.05$),对三者联合诊断价值进行预测发现实验数据集和验证数据集 AUC 值结果均为 1。见表 1。

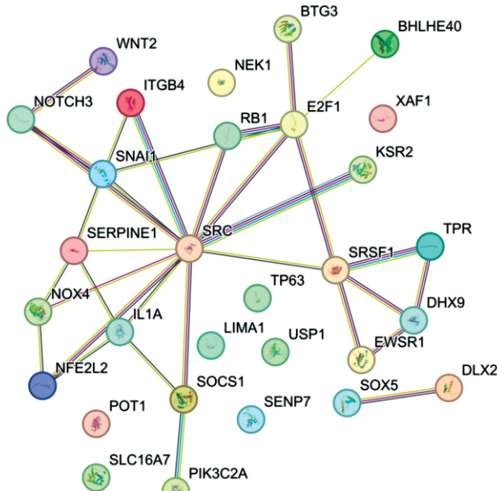
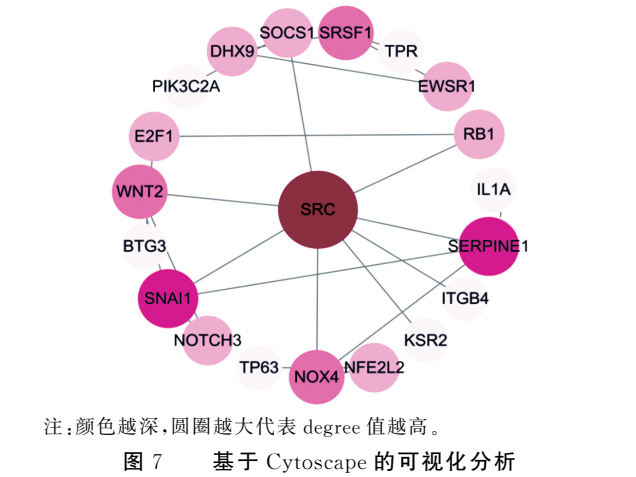


图 6 基于 STRING 分析的 PPI 网络图



2.5 免疫细胞浸润分析结果 滑膜组织中的免疫细胞主要以巨噬细胞 M2 为主(图 9A),OA 滑膜组织中静息的记忆 CD4⁺ T 细胞少于正常骨关节滑膜组织,差异有统计学意义($P=0.007$)(图 9B)。OA 滑膜组织中诸多免疫细胞间存在相关性,如幼稚 CD4⁺ T 细胞与嗜酸性细胞呈正相关[相关系数(r)=1],幼稚 CD4⁺ T 细胞与激活的 NK 细胞呈正相关($r=0.95$),激活的 NK 细胞与嗜酸性细胞呈正相关($r=0.89$),激活的肥大细胞与巨噬细胞 M2 呈负相关($r=-0.93$),记忆 B 细胞与巨噬细胞 M2 呈负相关($r=-$

0.89),静息肥大细胞与 $\gamma\delta$ T 细胞呈负相关($r=-0.87$)(图 10)。多元相关性分析结果显示,诊断标志物 NOX4 与幼稚 B 细胞、记忆 B 细胞、静止 CD4⁺ T 细胞、静止 NK 细胞、巨噬细胞 M1 存在相关性($P<0.05$),SNAI1、DHX9 和免疫细胞间无相关性($P>0.05$)。见表 2。

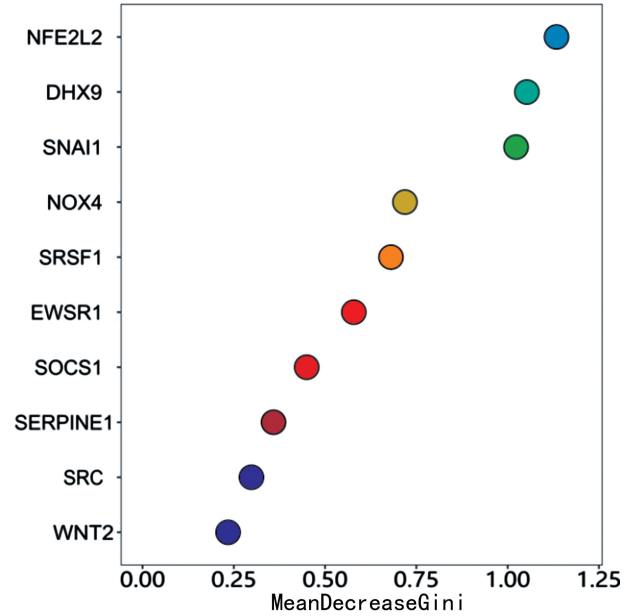
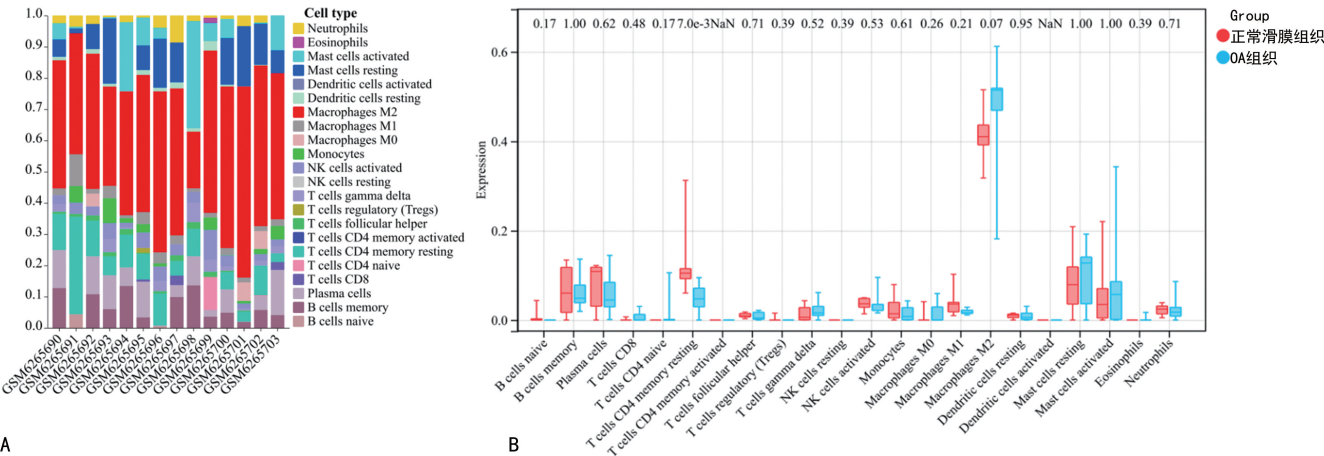


图 8 基于随机森林分析基尼系数的重要性排序

表 1 关键基因的 AUC 值及表达水平

关键基因	AUCs			P		
	GSE206848	GSE55235	GSE55457	GSE206848	GSE55235	GSE55457
SNAI1	1.00	0.90	0.84	0.000 6	0.001 5	0.008 9
SRSF1	0.98	0.73	0.55	0.001 2	0.089 0	0.740 0
NOX4	0.98	0.84	0.77	0.001 2	0.008 9	0.043 0
DHX9	1.00	0.84	1.00	0.000 6	0.008 9	1.1E-05
NFE2L2	1.00	0.59	0.69	0.000 6	0.530 0	0.170 0
SNAI1+NOX4+DHX9	1.00	1.00	1.00	/	/	/



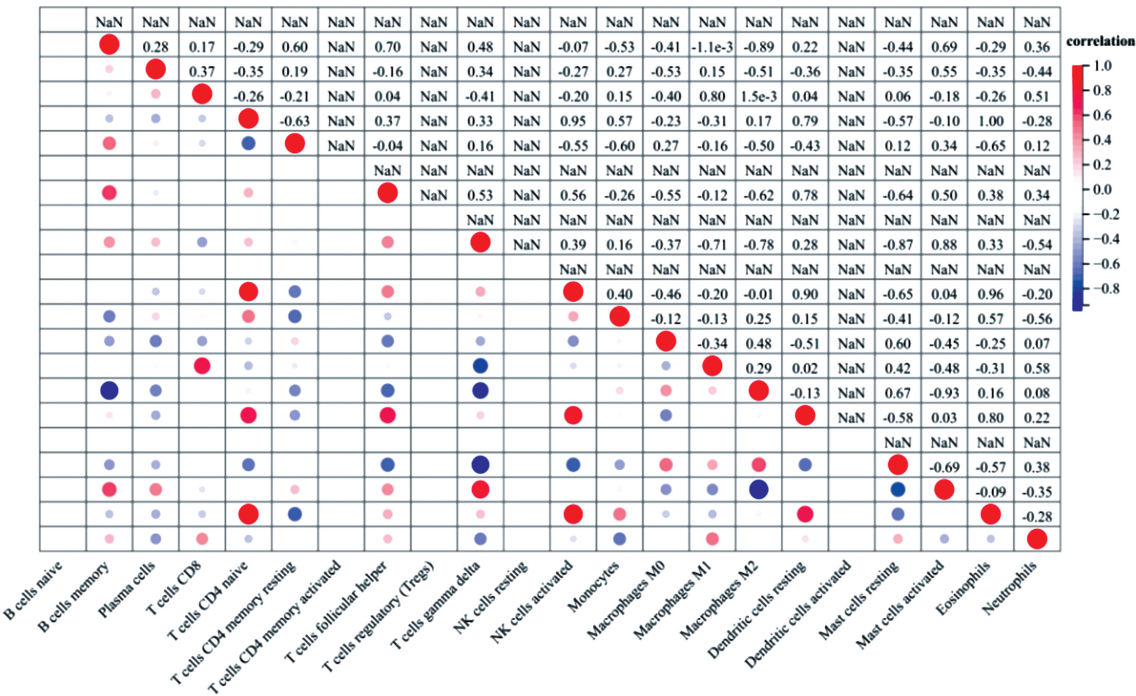


图 10 滑膜免疫细胞之间相关性分析

表 2 诊断标志物与免疫细胞多元相关性分析结果

免疫细胞类别	P		
	SNAI1	NOX4	DHX9
幼稚 B 细胞	0.275	<0.001	0.154
记忆 B 细胞	0.335	<0.05	0.184
浆细胞	0.972	0.187	0.199
CD8 ⁺ T 细胞	0.790	0.533	0.982
幼稚 CD4 ⁺ T 细胞	0.888	0.700	0.325
静止 CD4 ⁺ T 细胞	0.970	<0.001	0.785
记忆 CD4 ⁺ T 细胞	—	—	—
滤泡辅助 T 细胞	0.768	0.361	0.426
调节性 T 细胞	0.179	0.974	0.434
γδT 细胞	0.124	0.493	0.233
静息 NK 细胞	0.391	<0.001	0.088
激活 NK 细胞	0.419	0.617	0.977
单核细胞	0.636	0.374	0.972
巨噬细胞 M0	0.976	0.653	0.233
巨噬细胞 M1	0.208	<0.001	0.908
巨噬细胞 M2	0.833	0.774	0.208
静息树突状细胞	0.613	0.573	0.607
激活树突状细胞	—	—	—
静息肥大细胞	0.228	0.523	0.424
激活肥大细胞	0.261	0.319	0.85
嗜酸性粒细胞	0.893	0.713	0.339
中性粒细胞	0.772	0.997	0.686

注：—表示无此项。

3 讨 论

年龄是 OA 最常见的危险因素之一,随着年龄的
增长,OA 的发病率逐渐增加^[10-11]。OA 的发生与关

节衰老细胞的堆积有关^[12],有研究表明衰老的滑膜细
胞在 OA 进展中发挥重要作用^[5]。寻找细胞衰老的
有效生物标志物已引起广泛关注^[13],因此本研究采用
GSE206848 作为研究数据集,并结合 SRGs 进行分
析,探索滑膜细胞衰老诊断标志物,相较既往的研究
有所不同,以往研究多数集中在 GSE55235、
GSE55457、GSE51588、GSE12021、GSE82107 等数据
集上^[14-17],且并未考虑衰老相关因素。

3.1 DESRGs 的生物学功能 本研究筛选出 30 个
DESRGs,这些基因可能是引发 OA 的重要因素。通过
GO 富集结果发现,滑膜细胞衰老基因的表达是复
杂的过程,涉及多个细胞组分、分子结构的结合和转
录调控的过程,而这些过程失调会导致慢性炎症和关
节疾病,如 OA 的发生。相关研究发现衰老的滑膜细
胞不仅会影响滑膜的质量,还会增加白细胞介素-1β
(IL-1β)、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)和血管
内皮生长因子(VEGF)的表达,从而产生软骨退化的
炎症微环境^[18]。KEGG 富集结果集中在细胞衰老、
肿瘤、内分泌抵抗等特定信号通路上,滑膜细胞衰老
基因的表达通过以上途径调节,最终可导致 OA 的
发生。

3.2 OA 衰老相关关键基因的识别 基于 PPI 分析
本研究识别出了 10 个可能起关键作用的 SRGs,通过
随机森林算法对这 10 个基因之间的可能相关作用关
系的进一步分析,排在前 5 位的基因为 NFE2L2、
DHX9、SNAI1、NOX4、SRSF1。随机森林算法作为
机器学习算法的一种,能够充分识别基因间复杂的作
用关系,对于疾病诊断和预后的预测有重要意义。通
过 ROC 曲线及表达水平差异的对比分析,发现这 5
个基因都表现出很高的诊断价值。通过外部的验证

集检验, SNAI1、NOX4 和 DHX9 基因诊断价值最为突出, 联合诊断预测价值更高。SNAI1 是锌指转录因子 SNAI 家族的一员, 是上皮-间充质转化过程中最重要的转录因子之一^[19-21]。有研究表明, SNAI1 可通过不同的信号途径导致滑膜细胞产生更多的炎症细胞因子和基质金属蛋白酶, 导致关节的炎症和细胞外基质(EMC)退化^[22-23], 另有研究表明, SNAI1 也参与了软骨细胞分化和增殖的调控^[24-25]。NOX4 是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶(NOX)家族蛋白的一员^[26], 表达时可产生过量活性氧, 引起氧化应激导致组织损伤和炎症反应延长, 致使软骨的退变和 EMC 降解^[27-30], 而 NOX4 缺乏可恢复软骨稳态, 抑制氧化应激、炎症并延缓 OA 进展^[28]。DHX9 也称为 RNA 解旋酶 A(RHA), 是一种 NTP 依赖性 RNA 解旋酶, 属于 DExD/H-Box 解旋酶家族成员^[31]。有研究表明, DHX9 可激活关节软骨细胞中的核因子- κ B(NF- κ B)信号传导, 导致 ECM 分解代谢和细胞凋亡, 最终促进 OA 进展^[32]。总之, 现有的文献证据支持本研究结果, SNAI1、NOX4 和 DHX9 可能成为准确诊断骨关节滑膜细胞衰老的强力标志物。

3.3 免疫细胞与骨关节滑膜组织间的关系 骨关节滑膜组织中的免疫细胞主要以巨噬细胞 M2 为主, 这与多数的研究结果一致^[16-17, 33], M2 型巨噬细胞主要负责组织的抗炎和修复^[34]。正常的滑膜组织中静息的记忆 CD4⁺T 细胞多于 OA 滑膜组织, 这一结果也与其他的研究结果相似^[16, 33], 意味着滑膜静息的记忆 CD4⁺T 细胞缺乏可能导致 OA 发生和进展。OA 滑膜组织诸多免疫细胞间存在复杂且精细的互动关系, 在它们的共同作用之下可能促进 OA 形成与发展。通过对诊断标志物 SNAI1、NOX4 和 DHX9 与免疫细胞浸润多元回归分析发现 NOX4 与幼稚 B 细胞、记忆 B 细胞、静止 CD4⁺T 细胞、静止 NK 细胞、巨噬细胞 M1 存在密切相关性, 表明 NOX4 诱导 OA 发生过程中这些免疫细胞发挥着重要的作用。当然, 上述推断还需要进一步研究以阐明 OA 滑膜组织与免疫细胞之间复杂的相互作用关系。

综上所述, OA 的发生与滑膜细胞的衰老密切相关。SNAI1、NOX4、DHX9 是本研究发现的与滑膜衰老相关的生物标志物, 有助于未来的治疗新策略。但这项研究存在一些局限性, 研究的样本量相对较少, 可能对研究结果造成一定的差异, 因此通过多个数据集验证来提高研究结果的准确度。希望未来能有更多从滑膜细胞衰老的角度对 OA 进行深入研究, 以滑膜细胞衰老的基因作为靶点改善 OA 患者预后。

参考文献

[1] LIU Y K, ZHANG Z A, LI T, et al. Senescence in osteoarthritis: From mechanism to potential treatment[J]. Arthritis Res Ther, 2022, 24(1):

174.
[2] HUNTER D J, MARCH L, CHEW M. Osteoarthritis in 2020 and beyond: A Lancet Commission[J]. Lancet, 2020, 396(10264): 1711-1712.
[3] JEON O H, DAVID N, CAMPISI J, et al. Senescent cells and osteoarthritis: A painful connection[J]. J Clin Invest, 2018, 128(4): 1229-1237.
[4] CHILDS B G, DURIK M, BAKER D J, et al. Cellular senescence in aging and age-related disease: From mechanisms to therapy[J]. Nat Med, 2015, 21(12): 1424-1435.
[5] CHEN X, GONG W, SHAO X, et al. METTL3-mediated m6A modification of ATG7 regulates autophagy-GATA4 axis to promote cellular senescence and osteoarthritis progression[J]. Ann Rheum Dis, 2022, 81(1): 85-97.
[6] VARELA-EIRÍN M, CARPINTERO-FERNÁNDEZ P, GUTIÁN-CAAMAÑO A, et al. Extracellular vesicles enriched in connexin 43 promote a senescent phenotype in bone and synovial cells contributing to osteoarthritis progression[J]. Cell Death Dis, 2022, 13(8): 681.
[7] JEON O H, KIM C, LABERGE R M, et al. Local clearance of senescent cells attenuates the development of post-traumatic osteoarthritis and creates a pro-regenerative environment[J]. Nat Med, 2017, 23(6): 775-781.
[8] ZHANG H, SHAO Y, YAO Z, et al. Mechanical overloading promotes chondrocyte senescence and osteoarthritis development through downregulating FBXW7[J]. Ann Rheum Dis, 2022, 81(5): 676-686.
[9] THORUP A S, STRACHAN D, CAXARIA S, et al. ROR2 blockade as a therapy for osteoarthritis[J]. Sci Transl Med, 2020, 12(561): eaax3063.
[10] BIERMA-ZEINSTRA S. Osteoarthritis[J]. Lancet, 2019, 393(10182): 1745-1759.
[11] MOTTA F, BARONE E, SICA A, et al. Inflammation and osteoarthritis[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2023, 64(2): 222-238.
[12] CALCINOTTO A, KOHLI J, ZAGATO E, et al. Cellular senescence: aging, cancer, and injury[J]. Physiol Rev, 2019, 99(2): 1047-1078.
[13] HERNANDEZ-SEGURA A, NEHME J, DEMARIA M. Hallmarks of cellular senescence[J]. Trends Cell Biol, 2018, 28(6): 436-453.
[14] CAI W, LI H, ZHANG Y, et al. Identification

of key biomarkers and immune infiltration in the synovial tissue of osteoarthritis by bioinformatics analysis[J]. *Peer J*, 2020, 8; e8390.

[15] CHANG B, HU Z, CHEN L, et al. Development and validation of cuproptosis-related genes in synovitis during osteoarthritis progress[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1090596.

[16] DENG Y J, REN E H, YUAN W H, et al. GRB10 and E2F3 as diagnostic markers of osteoarthritis and their correlation with immune infiltration[J]. *Diagnostics*, 2020, 10(3):171.

[17] XIA L, GONG N. Identification and verification of ferroptosis-related genes in the synovial tissue of osteoarthritis using bioinformatics analysis[J]. *Front Mol Biosci*, 2022, 9:992044.

[18] FELSON D T. Osteoarthritis as a disease of mechanics[J]. *Osteoarthr Cartil*, 2013, 21(1):10-15.

[19] LU W, KANG Y. Epithelial-mesenchymal plasticity in cancer progression and metastasis[J]. *Dev Cell*, 2019, 49(3):361-374.

[20] LAMOUILLE S, XU J, DERYNCK R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(3):178-196.

[21] DONG B, WU Y. Epigenetic regulation and post-translational modifications of Snail in cancer metastasis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(20):11062.

[22] LAUZIER A, LAVOIE R R, CHARBONNEAU M, et al. Snail is a critical mediator of invadosome formation and joint degradation in arthritis[J]. *Am J Pathol*, 2016, 186(2):359-374.

[23] CAO X, WU S, WANG X, et al. Receptor tyrosine kinase C-kit promotes a destructive phenotype of FLS in osteoarthritis via intracellular EMT signaling[J]. *Molec Med*, 2023, 29(1):38.

[24] DE F C A, VEGA S, MANZANARES M, et al. Snail1 is a transcriptional effector of FGFR3 signaling during chondrogenesis and achondroplasias[J]. *Dev Cell*, 2007, 13(6):872-883.

[25] CHEN Y, GRIDLEY T. Compensatory regulation of the Snail and Snai2 genes during chondrogenesis[J]. *J Bone Mineral Res*, 2013, 28(6):1412-1421.

[26] LI Y, PAGANO P J. Microvascular NADPH oxidase in health and disease[J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 109:33-47.

[27] WEGNER A M, HAUDENSCHILD D R. NADPH oxidases in bone and cartilage homeostasis and disease: A promising therapeutic target[J]. *J Orthop Res*, 2020, 38(10):2104-2112.

[28] RENAUDIN F, OUDINA K, GERBAIX M, et al. NADPH oxidase 4 deficiency attenuates experimental osteoarthritis in mice [J]. *RMD Open*, 2023, 9(1):e002856.

[29] LIAO C R, WANG S N, ZHU S Y, et al. Advanced oxidation protein products increase TNF- α and IL-1 β expression in chondrocytes via NADPH oxidase 4 and accelerate cartilage degeneration in osteoarthritis progression[J]. *Redox Biol*, 2020, 28:101306.

[30] DREVET S, GAVAZZI G, GRANGE L, et al. Reactive oxygen species and NADPH oxidase 4 involvement in osteoarthritis[J]. *Exp Gerontol*, 2018, 111:107-117.

[31] PAN Y Q, XING L. The current view on the helicase activity of RNA helicase A and its role in gene expression[J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2021, 22(1):29-40.

[32] TANG S, CAO Y, CAI Z, et al. The lncRNA PILA promotes NF- κ B signaling in osteoarthritis by stimulating the activity of the protein arginine methyltransferase PRMT1[J]. *Sci Signal*, 2022, 15(735):eabm6265.

[33] YE T, HAOYUAN Z, BEI Z, et al. Exploration of biomarkers in osteoarthritis based on bioinformatics[J]. *Medicine*, 2021, 100(31):669-678.

[34] ZHANG H, CAI D, BAI X. Macrophages regulate the progression of osteoarthritis[J]. *Osteoarthr Cartil*, 2020, 28(5):555-561.

(收稿日期:2023-11-03 修回日期:2024-06-23)