

两种基因多态性与退行性腰椎管狭窄症的关联性分析

张彦军¹ 郭铁峰^{1△} 杜凯然² 刘晓雪² 罗林钊² 李佳明²

[摘要] 目的:分析腰椎管狭窄症(Lumbar Spinal Stenosis, LSS)高发体质类型肝肾亏虚型与COL11A1、HBOX4位点多态性的相关性。方法:根据诊断和排除标准,随机抽取甘肃省中医院脊柱骨二科2016年6月至2018年6月门诊和住院治疗的退行性腰椎管狭窄症患者80例为病例组,来自甘肃省中医院脊柱骨二科门诊的80例非腰椎退行性疾患患者为对照组,与病例组匹配,其中肝肾亏虚型35例,非肝肾亏虚型45例。抽取外周血2 mL作为检测样本,提取DNA,对PCR产物进行DNA测序,检测COL11A1、HBOX4基因的2个位点(即rs1676486、rs520540位点),进行统计学分析。结果:COL11A1的rs1676486与等位基因频率病例组高于对照组($P < 0.05$),可能是导致腰椎管狭窄症的危险因素之一;对照组HBOX4的rs520540位点CT、TT、CC基因表达病例组低于对照组($P < 0.05$),可能是预防腰椎管狭窄症的因素之一。结论:COL11A1基因与6p21.3C/G位点多态性与腰椎管狭窄症之间存在一定关联性。选取COL11A1的一个SNP位点rs14637185,发现腰椎管狭窄患者的COL11A1基因型频率和等位基因型频率均高于非腰椎疾患的患者,但从中继续深入研究发现COL11A1、HBOX4基因的多态性与肝肾亏虚型腰椎管狭窄症患者存在一定相关性;HBOX4位于17q21的rs520540位点CT、TT、CC上调能够降低腰椎管狭窄症的发病率,将为治疗腰椎退行性病提供新的治疗靶点。

[关键词] 基因多态性;腰椎管狭窄症;肝肾亏虚型;关联性;治疗靶点

[中图分类号] R681.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2021)08-0034-05

Study on the Association between Two Gene Polymorphism and Degenerative Lumbar Spinal Stenosis

ZHANG Yanjun¹ GUO Tiefeng^{1△} DU Kairan² LIU Xiaoxue²
LUO Linzhao² LI Jiaming²

¹Gansu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China;

²Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730013, China.

Abstract Objective: To investigate the correlation between lumbar spinal stenosis and high case type of liver and kidney deficiency and the polymorphism of COL11A1 and HBOX4. **Methods:** Research objects were selected according to the diagnosis and exclusion criteria. 80 patients with degenerative lumbar spinal stenosis were randomly selected as the study group from June 2016 to June 2018 in hospital. 80 patients with non-lumbar degenerative diseases from hospital were taken as the control group and matched with case group, and there were 35 cases of liver and kidney deficiency type and 45 cases of liver and kidney deficiency type. 2 mL peripheral blood was extracted as the detection sample. DNA was extracted. DNA sequencing was performed on PCR products, and two loci of COL11A1 and HBOX4 genes, namely rs1676486 and rs520540, were detected for statistical analysis. **Results:** rs1676486 and allele frequency of COL11A1 in the case group were higher than those in the control group ($P < 0.05$), which may be one of the risk factors for lumbar spinal stenosis. The expression of CT, TT and CC genes at rs520540 of HBOX4 was lower in the experimental group than in the control group

($P < 0.05$), which may be one of the factors for the prevention of lumbar spinal stenosis. **Conclusion:** There is a certain correlation between COL11A1 gene and 6P21.3C/G polymorphism and lumbar spinal stenosis. The SNP locus of COL11A1, rs14637185 is selected, and it is found that the

基金项目:甘肃省卫生行业科研基金(GSWSKY2016-01)

¹ 甘肃省中医院(兰州,730050)

² 甘肃中医药大学

△通信作者 E-mail:923433675@qq.com

frequency of COL11A1 genotype and allelic genotype in patients with lumbar spinal stenosis are higher than that in those without lumbar diseases. However, further studies find that polymorphisms of COL11A1 and HBOX4 genes are correlated with patients with lumbar spinal stenosis with liver-kidney deficiency. Up-regulation of CT, TT and CC at rs520540 of HBOX4 at 17q21 can reduce the incidence of lumbar spinal stenosis, which will provide a new therapeutic target for the treatment of lumbar degenerative diseases.

Keywords: genetic polymorphism; lumbar spinal stenosis; liver and kidney deficiency; correlation between; therapeutic targets

腰椎间盘突出性疾病是指由腰椎间盘突出引起的以腰腿疼痛、麻木及无力为主的临床症候群^[1]。随着遗传学及分子生物学的进展,已经陆续发现并提取与腰椎退行性病变相关的特异性基因。目前研究证实主要有 COL11A1、COL11A2、COL9A2、HOXB4、BMPII、Collagen 等基因与退行性腰椎管狭窄症有相关性^[2-3]。本院通过大量的临床观察研究,发现腰椎管狭窄症患者中医证型多集中在肝肾亏虚型,故推测肝肾亏虚型腰椎管狭窄与基因多态性存在一定的关联,从而利用中药调控其基因,获得基因的治疗靶点,提高中医药治疗相关疾病的临床疗效。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象

应用临床流行病学调查法,随机抽取甘肃省中医院脊柱骨二科 2016 年 6 月至 2018 年 6 月门诊和住院治疗的退行性腰椎管狭窄症患者 80 例为病例组,以来自甘肃省中医院脊柱骨二科门诊的 80 例非腰椎退行性疾患患者为对照组,与病例组匹配。对照组在年龄、性别、年龄、体质量指数、劳动强度与病例组相匹配。所有患者影像学资料完整。

1.2 诊断标准

腰椎管狭窄症诊断标准如下:

- 1)慢性腰痛史,部分病人有外伤史。
- 2)多发生于 60 岁以上的体力劳动者。
- 3)长期反复的腰腿痛和间歇性跛行,腰痛在前屈时减轻,在后伸时加重,腿痛多为双侧,可交替出现,站立和行走时出现腰腿痛或麻木无力,疼痛和跛行逐渐加重,体息后好转。严重者可引起尿频或排尿困难^[4]。
- 4)下肢肌萎缩,腱反射减弱,腰过伸试验阳性,直腿抬高试验阳性。

5)腰部 X 线、CT、MRI 检查见脊柱生理弧度改变,椎间隙变窄,椎体后缘骨质增生,后纵韧带钙化,小关节肥大或密度增高,椎弓根肥大、内聚,假性椎体滑移。

1.3 中医证候判定标准

依据《中医诊断学》制定“COL11A1 基因多态性与退行性腰椎管狭窄症的多态性研究”调查表,中医证型包括风寒痹阻型、肝肾亏虚型、气虚血瘀型^[5]。

1.4 纳入标准

- 1)与上述诊断标准相符;
- 2)年龄在 40~70 岁之间;
- 3)患者知情同意,自愿参加本次调查。

1.5 排除标准

- 1)不符合上述诊断标准者;
- 2)合并冠心病、糖尿病、高血压病等重大内科疾病,或患有严重的造血系统疾病、精神病等患者;
- 3)腰椎有结核、肿瘤、骨折、脱位、严重骨质疏松、感染、畸形等。

1.6 病例收集

对于调查者进行为期 1 周的相关标准培训,所有纳入及排除人群均由培训人员进行统一的数据统计。在此基础上,嘱患者空腹 10 h 后,抽取外周血 2 mL 作为检测样本,然后注入含肝素抗凝剂的真空管中混匀,置于 4 ℃冰箱保存待用。

1.7 实验材料

参考 NCBI 等人类基因组 SNP 库,用 Primer Premier 5.0 软件设计 9 个基因的 11 个多态性 SNP 位点的 PCR 引物序列。检测指标包括 COL11A1、HBOX4 基因的 2 个位点,即 rs14637185 和 rs520540 位点,引物由甘肃生物制剂公司合成^[6]。

1.8 试验方法

1.8.1 DNA 的提取 抽取外周静脉血抗凝离心后,常规 QIAampDNA Blood Mini 试剂盒提取 DNA。

1.8.2 PCR 扩增 COL11A1 引物(正向 5'-GACTATCCCCTCTTCAGAACTGTAAAC-3';反向 5'-CTTCTATCAAGTGGTTTCGTGGTTT-3')^[7];HBOX4 引物(5'-AC-TACAATCGCTACCTGACGC-3';反向 5'-TTGGGCAA-CTTGTGGTCTT-3')。PCR 反应体系:Premix ExTaq 25 μL,上游引物 2 μL,下游引物 2 μL,模板 DNA 4 μL,灭菌三蒸水 17 μL,总体积 50 μL。初始变性为 5 min/95 ℃^[8];6 个接地时间分别是 30 s/95 ℃,45 s/62 ℃或 64 ℃(初始退火温度),每个周期降低 1 ℃,并降低 45 s/72 ℃;另外 30 个周期分别是 30 s/95 ℃,45 s/56 ℃或 58 ℃(最终目标退火温度)和 45 s/72 ℃;最后延长 7 min/72 ℃。然后使用核酸外切酶 I 和虾碱性磷酸酶(GE Healthcare,Piscataway,美国新泽西州)纯化 PCR 产物^[9],

所得 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳鉴定。

1.8.3 PCR 扩增产物酶切 COL11A1 基因 6p21.3 位点 PCR 扩增产物在 37 ℃ 温水放置 30 min。COL11A1 基因 6q21.3 位点酶切产物:将配置完成的 1.5% 琼脂糖凝胶和 5 μL DL500 DNA 标记物分别加入样品槽中,标记号为 1。取 10× QuickCut Green Buffer 直接进行电泳检测,另取 5 μL 酶切产物依次加入琼脂凝胶板的其他样品槽中,用 1×TEB 缓冲液进行稀释。而后设定 125 V,电流保持在 80 mA 以上进行电泳分离。当溴酚蓝条带距离前沿 2 cm,5 μL DL500 DNA 标记物条带分散则可停止电泳,用拍照系统拍照观察。COL11A1 基因 6p21.3 位点 G 被 T 取代,形成 GT、GG、TT 3 种等位基因。用同上方法 HBOX4 基因 17q21 位点 T 被 C 取代,形成 TT、CT、CC 3 种等位基因。

1.9 统计学方法

采用 SPSS20.0 统计软件进行分析。用 χ^2 检验分析各基因型及等位基因分布差异, $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

纳入研究的患者共 80 例,签署知情同意书,其中对照组年龄 40~70 岁,中位数 58 岁;病程 6~22 个月,中位数 15 个月;病例组年龄 40~70 岁,中位数 59

岁;病程 7~26 个月,中位数 14 个月。两组患者的一般资料差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表 1。疾病分型:病例组与对照组分别分为风寒痹阻型、肝肾亏虚型、气虚血瘀型。两组数据经 χ^2 检验,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2,证实腰椎管狭窄症患者与肝肾阴虚型患者具有一定相关性。

表 1 腰椎管狭窄症与非腰椎管狭窄症患者性别、年龄、体质量指数比较($\bar{x}\pm s$)

组别	性别/例		年龄/岁	体质量指数/($\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$)
	男	女		
病例组	48	32	65.00±1.45	25.30±4.56
对照组	46	33	61.00±0.42	27.30±3.58
P	0.82			

表 2 腰椎管狭窄症与非腰椎管狭窄症三种中医证型比较(例)

组别	风寒痹阻	肝肾亏虚	气虚血瘀
病例组	13	46	21
对照组	24	27	29
χ^2	9.495		
P	0.009		

2.2 两组患者 COL11A1 基因多态性比较

选择 COL11A1 基因位点 rs14637185 基因型频率和等位基因型频率,在两组患者中差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3,提示 COL11A1 基因多态性与腰椎管狭窄的患病率存在一定的关联性。

表 3 对照组与病例组 6p21.3 C/G 基因型和等位基因频率比较[例(%)]

组别	基因型			等位基因	
	GG	GC	CC	C	G
对照组	29(36.25%)	24(30.00%)	27(33.75%)	78(48.75%)	82(51.25%)
病例组	45(56.25%)	23(28.75%)	12(15.00%)	47(29.38%)	113(70.62%)
χ^2	9.250			12.616	
P	0.01			<0.001	

将病例组 COL11A1 基因与 6p21.3 GG、CG、C、G 基因频率肝肾亏虚型、非肝肾亏虚型与对照组进行比较,其中肝肾亏虚型、非肝肾亏虚型与对照组的

COL11A1 各基因型差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4;肝肾亏虚型、非肝肾亏虚型和对照组等位基因差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

表 4 COL11A1 基因与 6p21.3 GG、CG、C、G 基因频率在腰椎管狭窄证中不同证候的分布[例(%)]

组别	体质	基因型			等位基因	
		GC	GG	CC	G	C
病例组	肝肾亏虚	17(37.00%)	19(41.30%)	10(21.70%)	55(59.80%)	37(40.20%)
	非肝肾亏虚	10(29.40%)	11(32.40%)	13(38.20%)	32(47.05%)	36(52.95%)
对照组		23(28.25%)	45(56.25%)	12(15.00%)	113(70.63%)	47(29.37%)
χ^2		9.899			11.714	
P		0.042			0.003	

将病例组 HBOX4 位于 17q21 的 rs520540 位点 TT、CT、CC 3 种基因型与对照组进行比较($P<0.05$)见表 5,病例组 C、T 2 种等位基因与对照组比较($P<0.05$)见表 5。将病例组 HBOX4 基因与 17q21 的 rs520540 位点 GG、CG、C、G 基因频率肝肾亏虚型、非

肝肾亏虚型与对照组进行比较,其中肝肾亏虚型、非肝肾亏虚型与对照组的 HBOX4 各基因型差异有统计学意义($P<0.05$),见表 6;肝肾亏虚型、非肝肾亏虚型与对照组等位基因差异有统计学意义($P<0.05$),见表 6。

表 5 对照组与病例组 HBOX4 位于 17q21 的 rs520540 位点 TT、CT、CC、C、T 基因型和等位基因频率比较[例(％)]

组别	基因型			等位基因	
	TT	CT	CC	C	T
对照组	18(22.50％)	17(21.25％)	45(56.25％)	107(66.88％)	53(33.12％)
病例组	42(52.50％)	27(33.75％)	11(13.75％)	49(30.63％)	111(69.37％)
χ^2	32.516			42.076	
P	<0.001			<0.001	

表 6 HBOX4 基因与 17q21 的 rs520540 位点 GG、CG、C、G 基因频率在腰椎管狭窄症中不同证候的分布[例(％)]

组别	体质	基因型			等位基因	
		GG	CG	CC	C	G
实验组	肝肾亏虚型	12(26.10％)	8(17.40％)	26(56.50％)	60(65.20％)	32(34.80％)
	非肝肾亏虚型	6(17.60％)	10(29.40％)	18(52.90％)	46(67.60％)	22(32.40％)
对照组		42(52.50％)	27(33.80％)	11(13.80％)	49(30.60％)	111(69.40％)
χ^2		32.649			40.745	
P		<0.001			<0.001	

3 讨论

腰椎管狭窄症最常见的类型是由脊柱并发疾病，例如小关节骨关节炎和椎间盘退变疾病引起的，高发人群主要集中在 50～70 岁年龄段，男性多于女性。Deer 等^[10]发现腰椎管狭窄症患者有 95％出现腰痛、背痛和坐骨神经痛，并出现间歇性神经源性跛行，也称为假性跛行，即患者行走一段时间后双下肢疼痛比腰背部疼痛更为严重，但休息后疼痛可迅速缓解。91％的人群出现双下肢痿软、无力，生活不便，甚至会出现截瘫及大小便失禁等情况^[10-12]。目前，多数研究者认为退行性腰椎管狭窄症为复杂疾病，又称为多因子病，其遗传模式属于多基因效应。遗传因素可能通过多种机制影响椎间盘退变，如影响脊柱结构的大小和形态，进而影响脊柱的力学结构，导致对外力作用的不耐受等。为分析基因变异及多态性对退行性腰椎管狭窄症的影响，大量研究关注于对脊柱稳定性具有重要作用的结构软骨蛋白编码基因。现已发现有聚集蛋白聚糖的突变及功能多态性，维生素 D 受体和胶原蛋白基因影响Ⅲ型胶原蛋白合成。实验研究显示在动物模型中Ⅲ型及Ⅱ型胶原蛋白改变与临床表型具有关联性。近期的研究主要集中在Ⅲ型胶原蛋白编码在 $\alpha 2$ 及 $\alpha 3$ 链上的胶原蛋白基因 COL9A2 和 COL9A3。1999 年 Annunen 首次对 COL9A2 等位基因突变体与椎间盘退变疾患的关联性进行研究，并证实 COL9A2 基因突变是导致椎间盘退变的重要因素，COL9A2 基因 Trp2 突变占腰椎退行性疾患的芬兰人群的 3.8％，而正常组未见有此等位基因。这一结果同样得到 Wu 等^[13]的证实^[13]，他们发现在有临床症状及放射学表现的腰椎退行性疾患的患者中等位基因对比遗传模型下，COL9A2 与亚洲人群的腰椎退行性疾患风险相关。Higashino 等^[14]观察到 COL9A2 基因 Trp2 等位基因发生率在芬兰人群中相对较高，并且进一步探讨基因

突变对疾病临床表型的影响，发现在控制组中有很高的自由性。除此之外，Wang 等^[15]通过转基因大鼠模型研究，显示Ⅲ型胶原蛋白的缺失将导致椎间盘的退变及椎间盘突出。

胶原蛋白(Collagen)为人和哺乳动物体内含量最为丰富的蛋白质(占人体蛋白质总量的 25％)，是细胞外基质中最重要的纤维蛋白。已有不少研究发现，胶原蛋白家族基因与退行性腰椎管狭窄症发病可能有关联性。胶原 11A2(COL11A2)基因定位于 6p21.3，表达于软骨中。在某些退行性腰椎管狭窄症术后样本的组化分析中，曾发现 COL11A2 过表达。Koga 等研究了 53 个日本退行性腰椎管狭窄症家系的 124 例患病同胞对(affected sib-pair)和 212 例健康对照个体，发现 COL11A2 基因的 4 个 SNP：启动子第 182 位的 A>C，第 6 内含子第 636 位的 T>A，第 43 外显子的 A>G，第 46 外显子的 C>T，均与退行性腰椎管狭窄症强烈关联。有研究者研究了 COL11A2 第 43 外显子的 A>G 与第 46 外显子的 C>T 两个 SNP 位点 rs712702754 和 rs377233986。2003 年，Tanaka 等分析了 70 个日本退行性腰椎管狭窄症家系的 142 例患病同胞对和 298 例健康对照个体，发现 3 个与退行性腰椎管狭窄症发病相关的 SNP：第 2 内含子的 +18、第 32 内含子的 -29 以及第 33 内含子的 +20。COL6A1 基因多态性可能有增加骨量的功能。COL6A1 第 21 内含子的 +18(rs143695871)是本研究进行检测的 SNP 位点之一，并未发现与退行性腰椎管狭窄症有显著的关联性。通过之前研究发现关于 COL11A1 基因与 6p21.3 的 rs14637185，发现 C 等位基因与腰椎管狭窄症存在一定的相关性，由此可表明 C 的等位基因导致腰椎间盘突出症的风险因素更高^[16-17]。以上分析可推理 COL11A1 的位点 6p21.3 rs14637185 与腰椎管狭窄症存在一定的相关性。

本研究结果显示 COL11A1 基因与 6p21.3 G/T 位点多态性与腰椎管狭窄症之间存在一定关联性。本研究选取了 COL11A1 的一个 SNP 位点 rs14637185, 发现腰椎管狭窄患者的 COL11A1 基因型频率和等位基因型频率均高于非腰椎疾患的患者, 但从继续深入研究发现 COL11A1 基因的多态性与肝肾亏虚型腰椎管狭窄症患者均有明显的相关性。由此则可证明腰椎管狭窄症患者犯病率高有可能与 COL11A1 基因 GG、GT、TT 等位基因多态性有密切关系, 可推测出药物抑制其细胞内的基因 (如 COL11A1 等类似基因), 可延缓甚至治疗腰椎管狭窄症患者, 以避免手术, 从而减轻患者的痛苦及经济负担。又根据研究证实 HBOX4 基因的表达可防治腰椎退行性病变, 本次实验对 HBOX4 基因 17q21 的 rs520540 位点等位基因频率和基因型频率进行检测, 再次证实其具有一定相关性。通过研究发现 HBOX4 等位基因 C、T 基因表达频率高低与患有腰椎管狭窄症的概率存在一定的相关性, 则患有腰椎管狭窄症患者 HBOX4 等位基因 C、T 的表达量低于非腰椎管狭窄症患者。对 COL11A1、HBOX4 两种基因分别观察其与肝肾亏虚型之间的关系, 发现肝肾亏虚型与两种基因的表达量均存在相关性。由此可推测运用补肝肾、强筋骨的中药, 可通过调控两种基因的表达频率, 一定程度上可防治腰椎管狭窄症。目前本团队根据此实验结果, 针对肝肾亏虚型腰椎管狭窄症患者研制相关院内制剂, 以期望对防治腰椎管狭窄症有一定临床疗效, 切实发挥中医药独特优势。

有研究证实有 2 个可能的新脊柱退行性疾病易感基因 PTCH1 和 COL17A1^[18], 2006 年 Seppane 等报道 COL17A1 蛋白存在于人的大脑神经元中, 可能涉及各种影响神经元的迁移或突触可塑性疾病^[19]。2007 年 Murrell 等发现 COL17A1 突变杂合子有牙釉质缺乏, 提示 COL17A1 蛋白合成量降低或发生突变的蛋白虽然可以维持真皮-表皮稳定性, 但会引起牙齿发育的异常^[20]。COL6A1 基因多态性可能与胸椎后纵韧带骨化的发病有关^[21]。随着科研水平的提高, 基因研究也在不断深入, 本团队将继续围绕胶原蛋白家族, 探索其与腰椎管狭窄症等骨科常见病间的关联性, 扩充病例数, 增加样本量, 深入剖析其分子生物学机制, 寻找治疗相关疾病的新靶点, 从而服务于临床, 应用于临床, 切实为患者减轻痛苦。

参考文献

- [1] 唐汉武, 林一峰. 退行性腰椎管狭窄症的中医病因病机研究综述[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2014, 22(4): 78-80.
- [2] SAETIA K, CHO D, LEE S, et al. Ossification of the posterior longitudinal ligament: a review[J]. Neurosurg Fo-

cus, 2011, 30(3): E1.

- [3] KARASUGI T, NAKAJIMA M, IKARI K, et al. A genome-wide sib-pair linkage analysis of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine[J]. J Bone Miner Metab, 2013, 31(2): 136-143.
- [4] 周宾宾, 李玉文, 蔡乐乐, 等. 腰椎管狭窄症中医证型规范化的探讨[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(12): 3176-3177.
- [5] 朱文锋. 中医诊断学[M]. 6 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1995: 117.
- [6] 倪娜, 刘文婷, 魏威, 等. 颈椎后纵韧带骨化症与 COL11A2 等基因多态性的关联性分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2013, 21(10): 16-19.
- [7] ANASTASSIOU D. Comment on "A COL11A1-correlated pan-cancer gene signature of activated fibroblasts for the prioritization of therapeutic targets"[J]. Cancer Lett, 2016, 382(2): 203-214.
- [8] 李盛华, 周明旺, 郭铁峰, 等. 血瘀质非创伤性股骨头坏死基因多态性研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2016, 23(11): 17-21.
- [9] PING Y S, HUNG L K, YAN F W, et al. A DNA pooling-based case-control study of myopia candidate genes COL11A1, COL18A1, FBN1, and PLOD1 in a Chinese population[J]. Molecular Vision, 2011, 17: 810-821.
- [10] DEER T, SAYED D, MICHELS J, et al. A review of lumbar spinal stenosis with intermittent neurogenic claudication: disease and diagnosis[J]. Pain Med, 2019, 20(Suppl 2): S32-S44.
- [11] LEE S Y, KIM T H, OH J K, et al. Lumbar stenosis: a recent update by review of literature[J]. Asian Spine Journal, 2015, 9(5): 818-828.
- [12] 张彦军, 李军杰, 邓强, 等. 活血通督汤联合手术治疗退行性腰椎管狭窄症的临床研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2018, 26(2): 37-40.
- [13] WU H, WANG S, CHEN W, et al. Collagen IX gene polymorphisms and lumbar disc degeneration: a systematic review and meta-analysis[J]. J Orthop Surg Res, 2018, 13(1): 47.
- [14] HIGASHINO K, MATSUI Y, YAGI S, et al. The alpha2 type IX collagen tryptophan polymorphism is associated with the severity of disc degeneration in younger patients with herniated nucleus pulposus of the lumbar spine[J]. Int Orthop, 2007, 31(1): 107-111.
- [15] WANG C J, IIDA K, EGUSA H, et al. Trabecular bone deterioration in col9a1 +/- mice associated with enlarged osteoclasts adhered to collagen IX-deficient bone[J]. J Bone Miner Res, 2008, 23(6): 837-849.
- [16] JIANG H, YANG Q, JIANG J, et al. Association between COL11A1 (rs1337185) and ADAMTS5 (rs162509) gene