

骨肉瘤组织卵巢肿瘤含域蛋白酶-2 和胶质细胞系源性神经
营养因子受体 1 表达与临床病理特征及预后的关系

郑宁宁¹ 薛绍鸥² 李娟² 王海梅² 姜秀贞³ 李书迪⁴ 胡秀茹⁵

[摘要] 目的:观察骨肉瘤组织中卵巢肿瘤含域蛋白酶-2(YOD1)和胶质细胞系源性神经营养因子受体 1(GFRA1)表达情况,并探讨二者表达与病理特征及预后的关系。方法:收集 2021 年 2 月至 2022 年 2 月 130 例骨肉瘤患者骨肉瘤组织标本和瘤旁组织(距离肿瘤边缘大于 5 cm)标本及临床资料,根据患者 1 年内死亡情况分为死亡组(40 例)和生存组(90 例)。采用免疫组织化学法检测组织 YOD1 和 GFRA1 表达水平,多因素 Cox 回归分析骨肉瘤患者预后的影响因素。结果:与瘤旁组织相比,骨肉瘤组织中 YOD1 阳性率和 GFRA1 阳性率显著较高,差异有统计学意义($P<0.05$)。肿瘤最大径 ≥ 3 cm、临床分期为Ⅱb~Ⅲ期、有软组织浸润、有远处转移、低分化的骨肉瘤患者 YOD1 阳性率和 GFRA1 阳性率高于肿瘤最大径 <3 cm、临床分期为Ⅰ~Ⅱa 期、无软组织浸润、无远处转移、中/高分化的骨肉瘤患者,差异有统计学意义($P<0.05$)。与生存组相比,死亡组中 YOD1 阳性率和 GFRA1 阳性率显著较高,差异有统计学意义($P<0.05$)。YOD1、GFRA1 及软组织浸润是骨肉瘤患者 1 年内死亡的独立危险因素,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论:YOD1 和 GFRA1 在骨肉瘤组织中高表达,且与肿瘤最大径、临床分期、软组织浸润、远处转移、分化程度及预后有关。

[关键词] 骨肉瘤;卵巢肿瘤含域蛋白酶-2;胶质细胞系源性神经营养因子受体 1;病理特征;预后

[中图分类号] R738.1 [文献标志码] A [文章编号]1005-0205(2023)08-0033-05

DOI:10. 20085/j. cnki. issn1005-0205. 230807

Expression of Ovarian Tumor Domain-Containing Protease-2 and Glial
Cell Line-Derived Neurotrophic Factor Receptor 1 in Osteosarcoma and
Their Relationship with Cinicopathological Characteristics and Prognosis

ZHENG Ningning¹ XUE Shaou² LI Juan² WANG Haimei²
JIANG Xiuzhen³ LI Shudi⁴ HU Xiuru⁵

¹ Department of Orthopaedics, Cangzhou Hospital of Integrated Chinese and Western medicine, Cangzhou 061000, Hebei China;

² Department of Nursing, Cangzhou Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine in Hebei Province, Cangzhou 061000, Hebei China;

³ Department of Breast Surgery, Cangzhou Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine in Hebei Province, Cangzhou 061000, Hebei China;

⁴ Department of Psychology, Cangzhou Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine in Hebei Province, Cangzhou 061000, Hebei China;

⁵ Department 1 of Radiotherapy and Chemotherapy, Cangzhou Hospital of Integrated Chinese and Western Medicine in Hebei Province, Cangzhou 061000, Hebei China.

基金项目:2022 年度河北医学科技计划项目(20220679)

¹ 河北省沧州中西医结合医院骨科(河北 沧州, 061000)

² 河北省沧州中西医结合医院护理部

³ 河北省沧州中西医结合医院乳腺外科

⁴ 河北省沧州中西医结合医院心理科

⁵ 河北省沧州中西医结合医院放疗化疗一科

Abstract Objective: To observe the expressions of ovarian tumor domain-containing protease-2 (YOD1) and glial cell line-derived neurotrophic factor receptor 1 (GFRA1) in osteosarcoma tissues, and to explore the relationship between their expressions and pathological characteristics and prognosis. **Methods:** The osteosarcoma tissue specimens and paratumor tissue (more than 5 cm from the tumor edge) specimens

and clinical data of 130 patients with osteosarcoma from February 2021 to February 2022 were collected, the patients were divided into death group (40 cases) and survival group (90 cases) according to the death situation within 1 year. The expression levels of YOD1 and GFRA1 in tissues were detected by immunohistochemistry, and the prognostic factors of prognosis of patients with osteosarcoma were analyzed by multivariate Cox regression analysis. **Results:** The positive rates of YOD1 and GFRA1 in osteosarcoma tissue were obviously higher compared with adjacent tissue ($P < 0.05$). The positive rates of YOD1 and GFRA1 in osteosarcoma patients with tumor maximum diameter ≥ 3 cm, clinical stage of stage II b–III, soft tissue infiltration, distant metastasis, and poor differentiation were higher than those in patients with tumor maximum diameter < 3 cm, clinical stage of stage I–II a, no soft tissue infiltration, no distant metastasis, moderate/well differentiation ($P < 0.05$). The positive rates of YOD1 and GFRA1 in the death group were significantly higher compared with the survival group ($P < 0.05$). YOD1, GFRA1, and soft tissue infiltration were independent risk factors for 1-year death in patients with osteosarcoma ($P < 0.05$). **Conclusion:** YOD1 and GFRA1 are highly expressed in osteosarcoma tissues, and are related to the maximum tumor diameter, clinical stage, soft tissue infiltration, distant metastasis, degree of differentiation and prognosis.

Keywords: osteosarcoma; ovarian tumor domain-containing protease-2; glial cell line-derived neurotrophic factor receptor 1; pathological features; prognosis

骨肉瘤是儿童、青少年最常见的原发性骨肿瘤,特点是预后差,致残率高,其不良预后主要是由于易发生转移,尤其是肺转移^[1-2]。随访数据表明,无肺转移的骨肉瘤患者5年生存率为70%,肺转移患者5年生存率降至30%,尽管目前骨肉瘤的化疗、新辅助化疗、放疗和免疫治疗等取得了进展,但骨肉瘤患者的5年生存率仍远未令人满意^[3]。因此,有必要优化骨肉瘤的早期检测、治疗进展和预后预测。Gong等^[4]研究中微小RNA-302 b可通过卵巢肿瘤含域蛋白酶-2(Ovarian Tumor Domain-containing Protease-2, OTUD2, 又称YOD1)调节相关通路,进而抑制骨肉瘤细胞增殖,发挥抗骨肉瘤作用。胶质细胞系源性神经营养因子受体1(Glial Cell Line Derived Neurotrophic Factor Receptor 1, GFRA1)参与神经细胞增殖、分化及迁移,且其表达与骨肉瘤细胞存活率有关^[5]。YOD1和GFRA1均与骨肉瘤的发生发展有密切联系,但二者与骨肉瘤临床病理特征及预后的关系仍不明确,本研究以此为目的,为靶向治疗骨肉瘤提供理论依据。

1 研究对象和方法

1.1 研究对象

收集2021年2月至2022年2月期间于本院就诊且接受治疗的130例骨肉瘤患者骨肉瘤组织标本及瘤旁组织(距离肿瘤边缘大于5 cm)标本。

1.2 诊断标准

骨肉瘤患者均经临床病理确诊,符合中国医师协会骨科医师分会制定的《骨肉瘤临床循证诊疗指南》^[6]。

1.3 纳入标准

1)术中获取的组织标本及患者随访资料完整;
2)研究对象本人或监护人详知研究内容并自愿签署同

意书;3)初诊及初治患者,入组前未进行过放疗、化疗及手术等治疗。

1.4 排除标准

1)合并其他类型恶性肿瘤者;2)怀孕或哺乳期病例;3)合并自身免疫功能或凝血功能障碍、肝肾等功能障碍、心脑血管疾病者。

1.5 方法

1.5.1 治疗方法 所有患者确诊后采用COSS96方案进行治疗,即术前进行1个疗程的阿霉素(90 mg/m^2),2个疗程的异环磷酰胺($2 \times 3 \text{ g/m}^2$)和顺铂(120 mg/m^2)及2个疗程的甲氨蝶呤(12 g/m^2),化疗后手术。

1.5.2 免疫组织化学法检测骨肉瘤组织和瘤旁组织YOD1、GFRA1表达水平 将收集的骨肉瘤组织和瘤旁组织样本置于中性甲醛(4%)中固定,固定后进行脱钙、脱水,并进行石蜡包埋,4 μm 厚度连续切片,60 $^{\circ}\text{C}$ 烘烤24 h左右,冷却备用,严格按照通用免疫组织化学试剂盒(上海羽喙生物科技有限公司,货号为YDDEF001)检测骨肉瘤组织和瘤旁组织YOD1、GFRA1表达。切片经脱蜡后采用乙醇梯度水化,避光条件3%过氧化物酶封闭30 min,柠檬酸缓冲液(pH6.0)高压煮沸修复5 min,分别加入YOD1一抗(上海科敏生物科技有限公司,货号为PAB22141)和GFRA1(上海科敏生物科技有限公司,货号为H00002674-M01)一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜后隔天取出加入二抗,DAB试剂盒(北京伊塔生物科技有限公司,货号为YT8204)显色,苏木精复染,脱水,透明封片,镜检。其中PBS缓冲液代替一抗作空白对照。结果由两名经验丰富的病理医师共同阅片判定,400倍镜下选取5个视野,每个视野数100个细胞,以棕黄色或棕色颗粒

为阳性标准,最终结果判定依据阳性细胞比例及染色强度综合进行判定,阳性细胞比例<1%、1%~10%、11%~50%、51%~80%、>80%分别为 0 分、1 分、2 分、3 分、4 分。染色强度:无着色、浅黄色、棕黄色、棕褐色分别为 0 分、1 分、2 分、3 分。两项乘积≤1 分则为阴性表达,两项乘积>2 分则为阳性表达。

1.5.3 随访 采用电话或门诊复查的方式对所有骨肉瘤患者进行为期 1 年的随访,患者出现癌因死亡时则随访结束,患者均未失访,随访率为 100%,根据 1 年内患者死亡情况将其分为死亡组(40 例)和生存组(90 例)。生存时间为术后日期至最终随访截止时间或骨肉瘤患者死亡时间,随访截至 2023 年 2 月。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件处理所有数据,计数资料均以“例(%)”表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Kaplan-Meier 法绘制骨肉瘤患者生存曲线;多因素 Cox 回归分析骨肉瘤患者预后的影响因素; $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

130 例骨肉瘤患者年龄为 9~31 岁,平均为

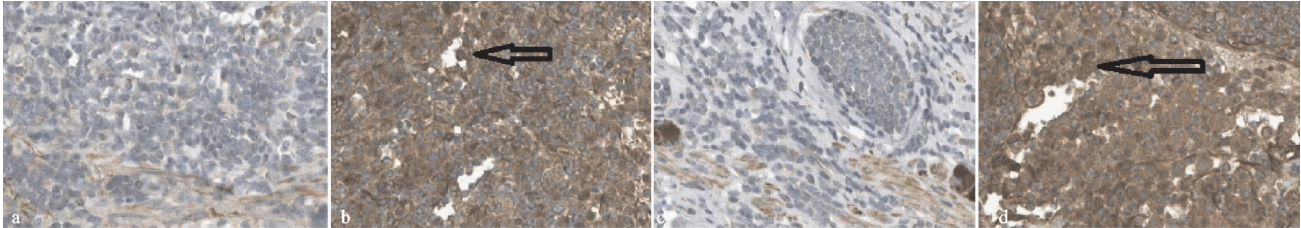
(20.14±5.79)岁。95 例年龄<20 岁,35 例年龄≥20 岁;男 70 例,女 60 例;38 例成软骨型,72 例成骨细胞型,20 例其他型;56 例胫骨,52 例股骨,22 例为其他;85 例肿瘤最大径<3 cm,45 例肿瘤最大径≥3 cm;68 例临床分期为 I~II a 期,62 例临床分期为 II b~III 期;59 例无软组织浸润,71 例有软组织浸润;62 例无远处转移,68 例有远处转移;84 例为中/高分化,46 例为低分化。术后 1 年内 40 例为患者死亡,90 例为患者生存。

2.2 骨肉瘤组织和瘤旁组织 YOD1、GFRA1 表达水平比较

与瘤旁组织相比,骨肉瘤组织中 YOD1 阳性率和 GFRA1 阳性率显著较高,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1 及图 1。

表 1 骨肉瘤组织和瘤旁组织 YOD1 和 GFRA1 表达水平比较[例(%)]

组织	例数	YOD1 阳性	GFRA1 阳性
瘤旁组织	130	28(21.54%)	24(18.46%)
骨肉瘤组织	130	98(75.38%)	86(66.15%)
χ^2		75.456	60.572
P		<0.001	<0.001



(a) 瘤旁组织中YOD1蛋白阴性表达 (b) 骨肉瘤组织中YOD1蛋白阳性表达 (c) 瘤旁组织中GFRA1蛋白阴性表达 (d) 骨肉瘤组织中GFRA1蛋白阳性表达

图 1 YOD1 及 GFRA1 在骨肉瘤组织和瘤旁组织中的表达(免疫组织化学,×400,箭头所示为阳性表达示例)

2.3 骨肉瘤组织 YOD1 及 GFRA1 表达水平与患者临床病理特征的关系

不同年龄、性别、病理类型、肿瘤部位的骨肉瘤患者 YOD1 阳性率及 GFRA1 阳性率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。肿瘤最大径≥3 cm、临床分期

为 II b~III 期、有软组织浸润、有远处转移、低分化的骨肉瘤患者 YOD1 阳性率、GFRA1 阳性率高于肿瘤最大径<3 cm、临床分期为 I~II a 期、无软组织浸润、无远处转移、中/高分化的骨肉瘤患者,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 骨肉瘤组织 YOD1 和 GFRA1 表达水平与患者临床病理特征的关系[例(%)]

临床病理特征		例数	YOD1 阴性 组(32 例)	YOD1 阳性 组(98 例)	χ^2	P	GFRA1 阴性 组(44 例)	GFRA1 阳性 组(86 例)	χ^2	P
年龄	<20	95	22(68.75%)	73(74.49%)	0.404	0.525	29(65.91%)	66(76.74%)	1.737	0.188
	≥20	35	10(31.25%)	25(25.51%)			15(34.09%)	20(23.26%)		
性别	男	70	19(59.38%)	51(52.04%)	0.522	0.470	28(63.64%)	42(48.84%)	2.565	0.109
	女	60	13(40.62%)	47(47.96%)			16(36.36%)	44(51.16%)		
肿瘤最大径/cm	<3	85	26(81.25%)	59(60.20%)	4.721	0.030	37(84.09%)	48(55.81%)	10.283	0.001
	≥3	45	6(18.75%)	39(39.80%)			7(15.91%)	38(44.19%)		
临床分期	I~II a 期	68	22(68.75%)	46(46.94%)	4.600	0.032	36(81.82%)	32(37.21%)	23.219	<0.001
	II b~III 期	62	10(31.25%)	52(53.06%)			8(18.18%)	54(62.79%)		
病理类型	成软骨型	38	6(18.75%)	32(32.65%)	2.296	0.317	8(18.18%)	30(34.88%)	4.120	0.127
	成骨细胞型	72	20(62.50%)	52(53.06%)			29(65.91%)	43(50.00%)		
	其他型	20	6(18.75%)	14(14.29%)			7(15.91%)	13(15.12%)		

(续表 2)

临床病理特征		例数	YOD1 阴性 组(32 例)	YOD1 阳性 组(98 例)	χ^2	<i>P</i>	GFRA1 阴性 组(44 例)	GFRA1 阳性 组(86 例)	χ^2	<i>P</i>
软组织	无	59	21(65.63%)	38(38.78%)	7.016	0.008	34(77.27%)	25(29.07%)	27.285	<0.001
	浸润	71	11(34.37%)	60(61.22%)			10(22.73%)	61(70.93%)		
肿瘤 部位	胫骨	56	14(43.75%)	42(42.86%)	0.155	0.926	18(40.91%)	38(44.19%)	0.149	0.928
	股骨	52	12(37.50%)	40(40.82%)			18(40.91%)	34(39.53%)		
	其他	22	6(18.75%)	16(16.32%)			8(18.18%)	14(16.28%)		
远处 转移	无	62	23(71.88%)	39(39.80%)	9.951	0.002	33(75.00%)	29(33.72%)	19.882	<0.001
	有	68	9(28.12%)	59(60.20%)			11(25.00%)	57(66.28%)		
分化 程度	中/高	84	26(81.25%)	58(59.18%)	5.137	0.023	36(81.82%)	48(55.81%)	8.609	0.003
	低	46	6(18.75%)	40(40.82%)			8(18.18%)	38(44.19%)		

2.4 不同预后情况骨肉瘤患者组织 YOD1 和 GFRA1 表达水平比较

与生存组相比,死亡组中 YOD1 阳性率、GFRA1 阳性率显著较高,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 不同预后情况骨肉瘤患者组织 YOD1 和 GFRA1 表达水平比较[例(%)]

组别	例数	YOD1 阳性	GFRA1 阳性
生存组	90	59(65.56%)	46(51.11%)
死亡组	40	35(87.50%)	34(85.00%)
χ^2		6.660	13.437
<i>P</i>		0.010	<0.001

2.5 多因素 Cox 回归分析骨肉瘤患者 1 年预后的影响因素

以骨肉瘤患者 1 年内是否死亡为因变量,以 YOD1 阳性、GFRA1 阳性、肿瘤最大径、临床分期、软组织浸润、远处转移、分化程度为自变量进行多因素 Cox 回归分析,结果显示 YOD1 阳性、GFRA1 阳性、软组织浸润是骨肉瘤患者 1 年内死亡的独立危险因素,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

3 讨论

骨肉瘤是一种常见于股骨远端、胫骨近端、肱骨的恶性肿瘤,骨骼的显著疼痛和肿胀是其基本特征,骨肉

表 4 多因素 Cox 回归分析骨肉瘤患者 1 年预后的影响因素

影响因素	<i>B</i>	<i>SE</i>	Wald	<i>HR</i>	95% <i>CI</i>	<i>P</i>
YOD1 阳性	1.027	0.328	9.800	2.792	1.468~5.310	0.002
GFRA1 阳性	0.958	0.315	9.253	2.607	1.406~4.834	0.002
肿瘤最大径	0.098	0.125	0.615	1.103	0.863~1.409	0.433
临床分期	0.120	0.116	1.062	1.127	0.898~1.414	0.303
软组织浸润	1.018	0.295	11.903	2.767	1.552~4.933	0.001
远处转移	0.141	0.129	1.188	1.151	0.894~1.482	0.276
分化程度	0.104	0.134	0.607	1.110	0.854~1.443	0.436

瘤在某些情况下可导致病理性骨折^[7]。骨肉瘤的治疗已从截肢发展到植入保肢手术,近年来过继细胞治疗、疫苗接种和检查点抑制剂等免疫治疗已成为一种有吸引力的治疗策略^[8-9]。然而对于出现肺转移或骨转移的骨肉瘤患者,其预后仍相对较差^[10],因此有必要开发新的预后生物标志物,也可以作为替代个体治疗靶点。

YOD1 基因定位于由四个外显子组成的染色体 1q32.1 上,它编码一个以卵巢肿瘤结构域为特征的半胱氨酸酶亚家族,控制细胞周期进程、转录激活和信号转导等细胞内过程,通过上调细胞增殖和抑制细胞凋亡诱导癌症进展^[11]。共表达网络和功能富集分析表明,YOD1 可能通过细胞黏附分子、p53、Hippo、TGF- β 等途径参与癌症的发生发展^[12]。Yan 等^[13]研究显示,骨肉瘤细胞系中 YOD1 高表达,且参与骨肉瘤细胞活力、增殖、黏附及凋亡,本研究骨肉瘤组织中 YOD1 表达趋势与其一致。基于既往文献推测 YOD1 在骨肉瘤发生进

展中可能起促癌基因作用,且可能是通过调控骨肉瘤细胞活力、增殖、黏附及凋亡来发挥作用。

GFRA1 是一种细胞表面膜受体,在胰腺癌、乳腺癌等癌症中被认为是癌基因,且 GFRA1 可以通过促进细胞自噬来增强顺铂诱导的骨肉瘤细胞的化疗耐药性^[14]。因此,GFRA1 是预防骨肉瘤化疗耐药的一个有希望的靶点,这表明 GFRA1 可能参与调节骨肉瘤的放射耐药。本研究结果表明骨肉瘤组织 GFRA1 表达上调,阳性表达率较高,与既往文献报道吻合^[15],提示高表达的 GFRA1 可能通过调节骨肉瘤细胞自噬而参与疾病的发生发展,其具体作用机制仍有待今后基础研究验证。

而进一步研究中 YOD1 和 GFRA1 与肿瘤最大径、临床分期、软组织浸润等临床特征的相关性结果推测:YOD1、GFRA1 高表达可能通过促进骨肉瘤细胞增殖、黏附等恶性生物学行为而加重病情,同时进一步提示二

者与骨肉瘤发病进程的相关性,YOD1 和 GFRA1 有可能作为辅助判断骨肉瘤恶性程度的生物指标。此外,本研究多因素结果表明,YOD1 和 GFRA1 均是骨肉瘤患者 1 年内死亡的独立危险因素,且死亡患者中 YOD1 阳性率和 GFRA1 阳性率显著较高,提示 YOD1 和 GFRA1 高表达与骨肉瘤患者较低的生存期有关,对于 YOD1 和 GFRA1 检测水平较高的骨肉瘤患者临床应高度警惕其预后不良发生风险,同时需完善相关检查,制定针对性治疗方案以改善结局。

综上所述,骨肉瘤组织中 YOD1 和 GFRA1 呈高表达,二者表达水平与临床特征肿瘤最大径、临床分期、软组织浸润、远处转移、分化程度密切相关。YOD1 和 GFRA1 高表达的骨肉瘤患者生存预后较不理想,二者可能作为预后评估的重要生物指标,为骨肉瘤靶向治疗提供新思路。然而本研究仅将骨肉瘤组织作为研究样本,未能选取血清等其他样本检测验证,今后将进一步优化实验结果,且本研究目前随访时间较短,仅初步探究早期预后,今后将延长随访时间进一步探究。

参考文献

[1] SHOAIB Z,FAN T M,IRUDAYARAJ J M K. Osteosarcoma mechanobiology and therapeutic targets[J]. Br J Pharmacol,2022,179(2):201-217.

[2] 秦桂福,吴琪,宋玉,等. 徐长卿丹皮酚联合顺铂对骨肉瘤细胞迁移和凋亡及相关蛋白表达的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志,2021,29(9):10-15.

[3] LEI T,QIAN H,LEI P, et al. Ferroptosis-related gene signature associates with immunity and predicts prognosis accurately in patients with osteosarcoma[J]. Cancer Sci, 2021,112(11):4785-4798.

[4] GONG M,LIU H,SUN N, et al. Polyethylenimine-dextran-coated magnetic nanoparticles loaded with miR-302b suppress osteosarcoma in vitro and in vivo[J]. Nanomedicine (Lond),2020,15(7):711-723.

[5] KIM M,KIM D J. GFRA1: a novel molecular target for the prevention of osteosarcoma chemoresistance[J]. Int J

Mol Sci,2018,19(4):1078-1091.

[6] 中国医师协会骨科医师分会,骨肿瘤专业委员会. 骨肉瘤临床循证诊疗指南[J]. 中华骨与关节外科杂志,2018,11(4):288-301.

[7] WANG P H,CHEN C M,CHEN C F, et al. Comparison of recycled autograft versus allograft in osteosarcoma with pathological fracture[J]. Int Orthop, 2021,45(8): 2149-2158.

[8] LIU W,XIE X,QI Y, et al. Exploration of immune-related gene expression in osteosarcoma and association with outcomes[J]. JAMA Netw Open,2021,4(8):1-11.

[9] SURI M,SONI N,OKPALEKE N, et al. A deep dive into the newest avenues of immunotherapy for pediatric osteosarcoma: a systematic review[J]. Cureus, 2021,13(9):1-14.

[10] LIU L,ZHANG X,LI C, et al. The value of Angiopoietin-2 as a biomarker for the prognosis of osteosarcoma: a protocol for systematic review and meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2021,100(32):1-5.

[11] 黄晔,赖蔚菁,黄如,等. LncRNA OCPAT1 通过调控 miR-320d/YOD1 信号通路促进卵巢癌的发生及发展[J]. 中国现代医生,2021,59(33):41-44.

[12] ZHANG Z,ZHAO W,LI Y, et al. YOD1 serves as a potential prognostic biomarker for pancreatic cancer[J]. Cancer Cell Int,2022,22(1):203-228.

[13] YAN R,JIN S,LIU H, et al. Dexmedetomidine inhibits cell malignancy in osteosarcoma cells via miR-520a-3p-YOD1 interactome[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2021,543(1):56-64.

[14] ZHANG J,RAO D,MA H, et al. LncRNA SNHG15 contributes to doxorubicin resistance of osteosarcoma cells through targeting the miR-381-3p/GFRA1 axis[J]. Open Life Sci,2020,15(1):871-883.

[15] HE P,XU Y Q,WANG Z J, et al. LncRNA LINC00210 regulated radiosensitivity of osteosarcoma cells via miR-342-3p/GFRA1 axis[J]. J Clin Lab Anal,2020,34(12):1-9.

(收稿日期:2023-02-05)

(上接第 32 页)

[29] RANGAN A,BREALEY S D,KEDING A, et al. Management of adults with primary frozen shoulder in secondary care (UK FROST): a multicentre, pragmatic, three-arm, superiority randomised clinical trial[J]. The Lancet,2020,396(10256): 977-989.

[30] ROBINSON C M,SEAH K T M,CHEE Y H, et al. Frozen shoulder[J]. The Journal of Bone and Joint Surgery: British Volume,2012,94(1): 1-9.

[31] 詹红生. 海派中医石氏伤科[M]. 上海:上海科技出版社, 2016.

[32] 蒋海军. 推拿手法治疗肩周炎的研究进展[J]. 中医临床研

究,2021,13(5):143-145.

[33] 孙鑫,谭婧,唐立,等. 重新认识真实世界研究[J]. 中国循证医学杂志,2017,17(2):126-130.

[34] LOEW M,HEICHEL T O,LEHNER B. Intraarticular lesions in primary frozen shoulder after manipulation under general anesthesia[J]. Journal of Shoulder and Elbow Surgery,2005,14(1): 16-21.

[35] CHO C H,BAE K C,KIM D H. Treatment strategy for frozen shoulder[J]. Clinics in Orthopedic Surgery, 2019, 11(3): 249-257.

(收稿日期:2022-11-12)