

## · 基础研究 ·

## 动态温热疏密波对软骨细胞凋亡调控基因表达的影响

林木南<sup>1</sup>, 李西海<sup>2</sup>, 刘献祥<sup>3</sup>, 林叶青<sup>1</sup>, 曾金雄<sup>1</sup>, 刘建华<sup>1</sup>, 郭健红<sup>1</sup>, 梁永刚<sup>1</sup>, 涂向东<sup>1</sup>, 刘庆红<sup>1</sup>

(1. 中国人民解放军南京军区福州总医院, 福建 福州 350025; 2. 福建中西医结合研究院, 福建 福州 350108; 3. 福建中医药大学, 福建 福州 350108)

**摘要 目的:**探讨动态温热疏密波对骨性关节炎软骨细胞凋亡调控基因表达的影响。**方法:**大白兔 60 只, 随机分为 2 组, 即: 正常组 (10 只) 和手术组 (50 只)。手术组采用改良 Hulth 法复制膝骨性关节炎模型, 术后随机分为 5 组, 模型组造模后常规饲养, 对照组微波治疗仪, 实验 1 组电 (疏密波) 治疗, 实验 2 组热 (热软膜) 治疗, 实验 3 组电热 (治疗型护膝动态温热疏密波) 治疗, 分别对应治疗 16 周后, 观察关节软骨的组织形态学, 检测软骨细胞的凋亡率及 p21、p53、Bcl-2 mRNA 的表达。**结果:**16 周时, 骨性关节炎模型成功建立, 经治疗后各组关节软骨组织形态学病理变化程度明显轻于模型组 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); 各组软骨细胞的凋亡率、p53 mRNA 表达, 模型组、对照组、实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组明显高于正常组 ( $P < 0.01$ ), 对照组、实验 2 组、实验 3 组明显低于模型组、实验 1 组 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 实验 3 组明显低于对照组、实验 2 组 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); 软骨细胞 p21、Bcl-2 mRNA 表达, 模型组、对照组、实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组明显低于正常组 ( $P < 0.01$ ), 对照组、实验 2 组、实验 3 组明显高于模型组、实验 1 组 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 实验 3 组明显高于对照组、实验 2 组 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。**结论:**动态温热疏密波能有效下调软骨细胞 p53 mRNA 表达, 上调 p21、Bcl-2 mRNA 表达, 从而抑制软骨细胞的凋亡, 延缓关节软骨退变。

**关键词** 骨性关节炎 软骨细胞 凋亡 动态温热疏密波

### The effect of dynamic warm sparse-dense wave on apoptosis regulatory genes expression of chondrocyte LIN

Mu-nan\*, Li Xi-hai, Liu Xian-xiang, Li Ye-qing, ZENG Jin-xiong, LIU Jian-hua, GUO Jian-hong, LIANG Yong-gang, TU Xiang-dong, LIU Qing-hong. \* Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Commang of the People's Liberation Army, Fuzhou 350025, Fujian, China

**ABSTRACT Objective:** To investigate the effect of dynamic warm sparse - dense wave on apoptosis regulatory genes expression of chondrocyte. **Methods:** 60 white rabbits were randomly divided into normal group ( $n = 10$ ) and operation group ( $n = 50$ ). The operation group copied knee osteoarthritis by modified Hulth Law were randomly divided into 5 groups. Model group received conventional breeding after modeled, control group received the microwave therapy, experimental group 1 received electricity (sparse - dense wave) therapy, experimental group 2 received thermal (thermal soft film) therapy, and experimental group 3 received electricity and thermal (dynamic warm sparse - dense wave) therapy. After treatment 16 weeks, the morphology of articular cartilage was observed, apoptosis rate and p21, p53, Bcl-2 mRNA expression of chondrocyte was detected. **Results:** After 16 weeks, knee osteoarthritis model was successfully established, articular cartilage morphology in each treatment group level of pathological changes significantly reduced than its in model group ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ). Apoptosis ate and p53 mRNA expression of chondrocyte, model group, control group, experimental group 1, experimental group 2 and experimental group 3 was significantly higher than the normal group ( $P < 0.01$ ), control group, experimental group 2 and experimental group 3 was significantly lower than the model group, experimental group 1 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), experimental group 3 was significantly lower than control group, experimental group 2 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); The expression of p21, Bcl-2 mRNA, Model group, control group, experimental group 1, experimental group 2, experimental group 3 was significantly lower than normal group ( $P < 0.01$ ), control group, experimental group 2 and experimental group 3 was significantly higher than model group, experimental group 1 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), experimental group 3 was significantly higher than control group, experimental group 2 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Dynamic warm sparse-dense wave can be effect of down - regulating the expression of p53 mRNA, up-regulating the expression of p21, Bcl-2 mRNA, inhibit chondrocyte apoptosis and delay the degeneration of cartilage.

**Key words** Osteoarthritis; Chondrocyte; Apoptosis; Dynamic warm sparse-dense wave

骨性关节炎(Osteoarthritis, OA)是常见的一种慢性、进展性骨关节疾病,随着人口老龄化发病率逐渐升高。关节软骨退变是该病发病的中心环节,在骨关节炎发生早期基质中胶原结构未破坏之前,软骨细胞和软骨已发生改变<sup>[1-2]</sup>。研究发现骨性关节炎中软骨细胞的凋亡程度与病变程度明显相关。因此,如何有效抑制软骨细胞凋亡可能是防治骨关节炎关键途径之一。前期研究表明,动态温热疏密波对骨关节炎有治疗作用,并对其氧自由基、细胞因子等有影响<sup>[3-5]</sup>。本实验通过观察动态温热疏密波对兔膝骨性关节炎软骨细胞凋亡调控基因 p21、p53、Bcl-2 表达的影响,探讨其抑制软骨细胞凋亡的作用机制,为防治膝骨性关节炎提供新的思路。

## 1 材料与方法

**1.1 实验仪器** 动态温热疏密波(治疗型护膝)由福州大学生物医学仪器研究所提供(国家发明专利号:ZL200510020077.6),波形周期 3.3 s,疏波 1.1 s,密波 2.2 s,输出电压 17.30 V,密波频率 100 Hz,疏波频率 2 Hz。

**1.2 实验动物** 取健康 6 月龄大白兔 60 只,雄性,空腹体重 2~2.2 kg,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,合格证书:SCXK(沪)2007-0011,福建中医药大学实验动物中心提供清洁级医学实验动物环境设施,合格证号:医动字第 23-016 号。实验过程中对动物的处置符合 2006 年科技部《关于善待实验动物的指导性意见》的规定。

**1.3 主要试剂及仪器** RNA 抽提 TRIzol 试剂(In-vitrogen 公司),Reverse transcription system 逆转录试剂盒(Promega 公司),DNA 分子量 Marker、PCR 试剂盒、SYBR Premix Ex TaqRM 荧光定量 PCR 试剂(TaKaRa 公司),兔  $\beta$ -Actin、p21、p53 和 Bcl-2 基因 cDNA 引物(上海生工生物工程公司合成)。BX40 显微镜(日本 OLYMPUS 公司),HU-12A 透射电子显微镜(日本日立公司),PE 2400 PCR 扩增仪(Perkin-Elmer 公司),荧光定量 PCR 仪(BIO-RAD 公司),Fluor-S 凝胶成像系统(BIO-RAD 公司),微量核酸-蛋白定量仪(Eppendorf 公司)。

**1.4 实验方法** 将所有动物精确称重后按抽签法随机分为 2 组,即:正常组(10 只)和手术组(50 只)。采用改良 Hulth 法造模<sup>[6]</sup>,取兔膝关节内侧入路,切断内侧副韧带,摘除内侧半月板,切断前交叉韧带。

术后连续 3 d 给青霉素,每次 20 万单位,每日 2 次肌肉注射。术后将手术组 50 只,按抽签法随机分为 5 组,即:模型组、对照组、实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组,共 6 组(表 1)。采用一笼一兔喂养,自 7 d 后开始每日强迫兔活动 30 min,连续干预 16 周。

### 1.5 观测指标

**1.5.1 光镜观察软骨组织形态:**取股骨内髌关节软骨,修成 0.5 cm × 0.5 cm × 0.5 cm 大小组织块,常规固定、脱钙、切片、HE 染色、封片,观察关节软骨的层次、软骨细胞及软骨下骨的变化。

表 1 动物分组及实验方法

组名	n	实验方法
正常组	10	未造模,常规饲养,未行治疗
模型组	10	造模后常规饲养,未行治疗
对照组	10	微波仪治疗,每天 30 min,14 d 为 1 个疗程,疗程间休息 2 d
实验 1 组	10	电(疏密波)治疗,每天 30 min,14 d 为 1 个疗程,疗程间休息 2 d
实验 2 组	10	热(热软膜)治疗,每天 30 min,14 d 为 1 个疗程,疗程间休息 2 d
实验 3 组	10	电热(护膝)治疗,每天 30 min,14 d 为 1 个疗程,疗程间休息 2 d

**1.5.2 透射电镜观察软骨细胞形态:**取股骨内侧髌中央 1 mm × 1 mm × 3 mm 大小软骨,3% 戊二醛酸溶液中固定 24 h,用 0.1 M 磷酸缓冲液冲洗 3 次,再加 0.1% 四氧化锇固定 90 min,去离子水冲洗 3 次,终止锇酸反应,不同浓度丙酮逐级脱水,脱钙液脱钙后环氧树脂浸透、包埋、硬化后修块半薄切片,定位后超薄切片,2% 醋酸铀、柠檬酸铅双重染色。透射电子显微镜观察关节软骨超微结构的变化。

**1.5.3 光镜、电镜下关节软骨组织形态学改变的分级标准:**采用 Mankin 软骨组织形态学改变的组织学分级标准<sup>[7]</sup>,根据组织的病变程度分别计分,表层软骨细胞分裂增生(0~3 分)、细胞排列(0~3 分)、AB-PAS 染色(0~4 分)、潮线(0~3 分)、血管翳样物生成(0~3 分),最高为 16 分。

**1.6 流式细胞仪检测软骨细胞的凋亡程度** 切取的关节软骨,剪碎成 1 mm<sup>3</sup>,PBS 冲洗 3 次后,置入盛有 0.2% II 型胶原酶的锥形瓶,37℃ 水浴 8 h,200 目过滤,离心收集细胞沉淀,并用 PBS 重悬细胞,离心后用 PBS 调整软骨细胞浓度为 1 × 10<sup>6</sup> mL<sup>-1</sup>。按照说明书分别加入 A 液、B 液、C 液后,上机检测,应用 Cell Quest 软件获取软骨细胞,Mod Fit 软件分析软骨细胞

的凋亡程度。

**1.7 Real time PT-PCR 检测关节软骨细胞凋亡基因 p21、p53、Bcl-2 mRNA 的表达** 麻醉成功后,打开术侧关节腔切取关节软骨,剪碎并立即置入含 RNAlater™ 试剂的 Ep 管中,充分浸泡软骨组织,4 ℃ 过夜后 -20 ℃ 保存,取 1 g 软骨组织严格依 TRIzol 试剂操作说明提取总 RNA,比色法和电泳法鉴定总 RNA 的质量,取 1 μg RNA 逆转录成 cDNA,以此 cDNA 为模板行 PCR 扩增 p21、p53、Bcl-2 以 β-actin 为内参(表 2)。Primer5 软件自行设计引物,RT-PCR 扩增条件为:94 ℃ 4 min,(94 ℃ 30 s,60 ℃ 40 s,72 ℃ 45 s),40 循环。溶解曲线分析确定 Real time RT-PCR 扩增的特异性。基因表达的差异分析,以 β-actin 基因 mRNA 的表达为内参照基因,检测待测样品中的目的基因的表达水平,以正常组数据为标准样本,各实验组为待测样品,比较待测样本相对校准样本的表达差异。第 1 步,应用参照基因对校准样本和待测样本进行校正: $\Delta Ct_{(校准样本)} = \text{目的基因}(\text{Mean Ct}) - \text{参照基因} \beta\text{-actin}(\text{Mean Ct})$ ;  $\Delta Ct_{(待测样本)} = \text{目的基因}(\text{Mean Ct}) - \text{参照基因} \beta\text{-actin}(\text{Mean Ct})$ ;第 2 步,校准样本和待测样本的  $\Delta Ct$  进行归一化: $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{(待测样本)} - \Delta Ct_{(校准样本)}$ ;第 3 步,表达差异的计算公式: $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。

**1.8 数据统计分析** SPSS 13.0 统计软件处理数据,计量资料采用平均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,行 *F* 检验及 *q* 检验;计数资料用  $\chi^2$  检验。

表 2 实验相关引物

引物	引物序列	引物长度 (bp)	退火温度 (℃)	基因地址
p21	F:5' - GTGTTTACAGGCT-TTGGAGTT - 3' R:5' - TCATTGAGGTATG-GAGTTCT - 3'	285	60	NM-001082756
p53	F:5' - CCTCACCATCATC-ACACTGG - 3' R:5' - GCTCTCGGAACAT-CTCGAAC - 3'	281	60	X90592
Bcl-2	F:5' - AAGCTGTCACAGA-GGGGCTA - 3' R:5' - GACGGTAGCGAC-GAGAGAAG - 3'	256	60	DQ529234
β-actin	F:5' - GAGTCAACGGATT-TGCTCGT - 3' R:5' - CCATCCACAGTCTT-CTGGGT - 3'	184	60	AF404278

**2 结果**

**2.1 光镜观察结果** 干预后各组之间有明显差异 ( $F = 36.594, P = 0.000$ ),正常组关节软骨表面光滑,4 层结构清晰。模型组关节软骨层变薄、粗糙,可见软骨细胞核固缩、坏死。实验 3 组关节软骨表面四层结构仍可辨;软骨层轻度变薄,移行层细胞和放射层细胞轻度增生,染色质分布均匀图 1。参照 Mankin 软骨组织形态学改变的组织学分级标准评价,结果如表 3 所示,模型组、对照组、实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组明显高于正常组 ( $P = 0.000$ ),实验 2 组、实验 3 组明显低于模型组 ( $P = 0.021, P = 0.001$ )。

表 3 16 周时各组关节软骨 Mankin 软骨组织形态学改变的组织学评分比较  $\bar{x} \pm s$

组别	n	分数(分)
正常组	10	4.52 ± 2.34
模型组	10	17.56 ± 3.75 <sup>1)</sup>
对照组	10	13.13 ± 3.23 <sup>1)2)3)</sup>
实验 1 组	10	13.27 ± 2.84 <sup>1)2)3)</sup>
实验 2 组	10	12.72 ± 3.55 <sup>1)2)4)</sup>
实验 3 组	10	9.36 ± 2.62 <sup>1)2)</sup>

注 与正常组比较,1)  $P < 0.01$ ;与模型组比较,2)  $P < 0.01$ ;与实验 3 组比较,3)  $P < 0.01$ ,4)  $P < 0.05$

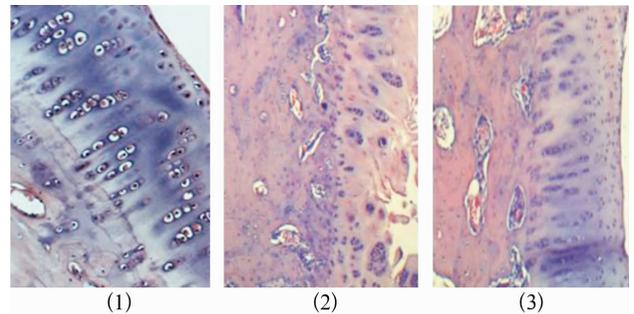


图 1 关节软骨的组织形态学观察光镜图,HE 染色

(1) 正常组 × 100,正常软骨细胞排列整齐 (2) 模型组 × 100,软骨细胞核固缩、坏死 (3) 实验 2 组 × 100,软骨表面破坏

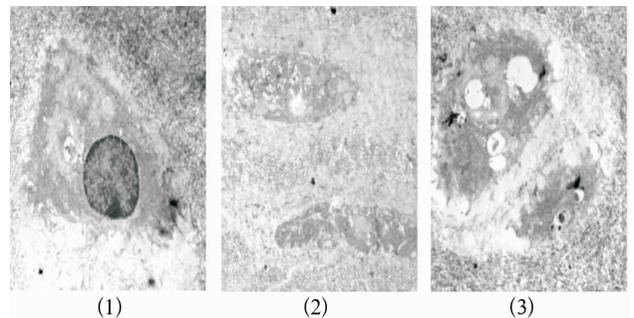


图 2 关节软骨组织形态学观察电镜图

2% 醋酸铀、柠檬酸铅双重染色

(1) 正常组 × 8 000,正常软骨细胞呈卵圆形,核仁清晰 (2) 模型组 × 8 000,软骨细胞碎裂 (3) 实验 2 组 × 8 000,退变软骨细胞

**2.2 透射电镜观察结果** 正常组软骨细胞呈卵圆形,表面微绒毛较多,细胞核完整,染色质均匀分布于核内;模型组软骨细胞明显固缩、周晕消失,染色质浓聚,散裂于核中,可见软骨细胞裂解成碎屑。实验 3 组软骨细胞轻度萎缩,表面突起增多,核内异染质增多、不规则,粗面内质网扩张,胞质内可见脂滴及微丝出现;对照组、实验 1 组与实验 2 组介于模型组、实验 3 组之间(图 2)。

**2.3 流式细胞仪检测软骨细胞的凋亡率** 各组之间软骨细胞凋亡率的有明显差异( $F = 36.603, P = 0.000$ ),模型组、对照组、实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组明显高于正常组( $P = 0.000$ ),对照组、实验 2 组、实验 3 组明显低于模型组( $P = 0.000$ )、实验 1 组( $P = 0.004, P = 0.000, P = 0.000$ );实验 3 组明显低于对照组( $P = 0.000$ )、实验 2 组( $P = 0.038$ ),见表 4。

表 4 软骨细胞的凋亡率  $\bar{x} \pm s$

组别	n	软骨细胞凋亡率(%)
正常组	10	5.65 ± 2.90
模型组	10	35.79 ± 4.96 <sup>1)</sup>
对照组	10	27.34 ± 3.23 <sup>1)2)3)4)</sup>
实验 1 组	10	32.74 ± 4.20 <sup>1)</sup>
实验 2 组	10	25.68 ± 4.03 <sup>1)2)3)5)</sup>
实验 3 组	10	21.90 ± 2.76 <sup>1)2)3)</sup>

注 与正常组比较,1) $P < 0.01$ ;与模型组比较,2) $P < 0.01$ ,与实验 1 组比较,3) $P < 0.01$ ,与实验 3 组比较,4) $P < 0.01$ ,5) $P < 0.05$

表 5 各组 p21、p53、Bcl-2 mRNA 表达的荧光定量 RT-PCR 检测结果  $\bar{x} \pm s$

组别	n	p21	p53	Bcl-2
正常组	10	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
模型组	10	0.85 ± 0.05 <sup>1)</sup>	1.45 ± 0.05 <sup>1)</sup>	0.83 ± 0.04 <sup>1)</sup>
对照组	10	0.88 ± 0.04 <sup>1)2)4)5)</sup>	1.41 ± 0.04 <sup>1)3)5)</sup>	0.89 ± 0.04 <sup>1)2)4)5)</sup>
实验 1 组	10	0.87 ± 0.03 <sup>1)</sup>	1.43 ± 0.03 <sup>1)</sup>	0.85 ± 0.04 <sup>1)</sup>
实验 2 组	10	0.90 ± 0.03 <sup>1)2)6)</sup>	1.39 ± 0.05 <sup>1)2)4)6)</sup>	0.88 ± 0.03 <sup>1)3)6)</sup>
实验 3 组	10	0.94 ± 0.07 <sup>1)2)4)</sup>	1.35 ± 0.04 <sup>1)2)4)</sup>	0.93 ± 0.05 <sup>1)2)4)</sup>

注 与正常组比较,1) $P < 0.01$ ;与模型组比较,2) $P < 0.01$ ,3) $P < 0.05$ ;与实验 1 组比较,4) $P < 0.01$ ;与实验 3 组比较,5) $P < 0.01$ ,6) $P < 0.05$

### 3 讨论

治疗型护膝结合临床和现代科学技术,采用动态温热疏密波对人体进行电刺激。动态温热疏密波是疏波和密波交替出现的一种波形,疏密交替持续的时间各约 1.5 s,具有促进代谢、血液循环,改善组织营养等功效。电脉冲的频率高于 30 Hz 的连续波称为密波,可降低神经应激功能,常用于止痛、镇静、缓解肌肉和血管痉挛等;频率低于 30 Hz 的连续波称为疏波,可使肌肉节律性收缩,提高肌肉韧带张力,并且有

**2.4 Real time RT-PCR 分析各组兔关节软骨组织 p21、p53、Bcl-2 mRNA 表达** 各组关节软骨组织中 p21、p53、Bcl-2 mRNA 均有表达,p21、p53、Bcl-2、 $\beta$ -actin 的荧光定量 RT-PCR 产物的熔解曲线为单一熔解峰,表明均为特异扩增。软骨细胞 p21 表达( $F = 17.632, P = 0.000$ ),模型组、对照组、实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组明显低于正常组( $P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000, P = 0.000, P = 0.002$ );对照组、实验 2 组、实验 3 组明显高于模型组( $P = 0.047, P = 0.011, P = 0.000$ );实验 3 组明显高于对照组( $P = 0.007$ )、实验 1 组( $P = 0.000$ )、实验 2 组( $P = 0.031$ )。软骨细胞 Bcl-2 mRNA 表达( $F = 35.259, P = 0.000$ ),模型组、对照组、实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组明显低于正常组( $P = 0.000$ );对照组、实验 2 组、实验 3 组明显高于模型组( $P = 0.005, P = 0.014, P = 0.000$ );实验 3 组明显高于对照组( $P = 0.019$ )、实验 1 组( $P = 0.000$ )、实验 2 组( $P = 0.007$ );软骨细胞 p53 mRNA 表达( $F = 174.426, P = 0.000$ ),模型组、对照组、实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组明显高于正常组( $P = 0.000$ );对照组、实验 2 组、实验 3 组明显低于模型组( $P = 0.006, P = 0.042, P = 0.000$ );实验 3 组明显低于对照组( $P = 0.032$ )、实验 1 组( $P = 0.000$ )、实验 2 组( $P = 0.004$ )(表 5)。

较强的穿透力,适用于各种肌肉、关节及韧带的损伤。

骨性关节炎病理过程以关节软骨退变、软骨基质降解为主要特征,软骨细胞功能的改变是其病理演变的关键。这一病理过程通常由于关节受力异常,关节软骨磨损刺激关节滑膜和软骨细胞出现炎症反应,局部组织中炎症刺激因子和炎性介质增多,引起细胞凋亡,继发软骨的变,出现软骨表面的胶原纤维退化,使软骨负荷面变薄,随着胶原纤维化的进一步发展,软骨的深层发生裂隙,导致失去正常的保护功能<sup>[8-9]</sup>。

本实验结果,16 周后膝关节内侧间隙明显变窄、大量骨赘、软骨下骨硬化,四层结构不清、软骨细胞固缩坏死、基质外露,表明骨性关节炎模型建立成功,动态温热疏密波治疗后光镜、透射电镜下软骨组织学改变滞后于模型组,提示动态温热疏密波可以延缓关节宏观形态、软骨基质的退变。

细胞凋亡(Apoptosis)又称程序性细胞死亡,是一种由基因调控的细胞主动死亡过程,在正常情况下,软骨细胞存在着凋亡的现象,软骨细胞的凋亡对于软骨的成熟和形态维持有着重要的作用<sup>[10-11]</sup>。p21 为周期素依赖性激酶抑制剂,为 p53 诱导的细胞生长阻滞的调节子,也是 CDK 活性的直接调节子之一<sup>[12-13]</sup>。抑癌基因 p53 可抑制细胞周期 G2/S 期关键点转换和细胞增殖,并诱导凋亡。p53 抑制 DNA 复制,间接促进 DNA 损伤修复,维持遗传信息的稳定性和精确性,p53 的激活可以终止细胞的复制而导致细胞进入凋亡程序<sup>[14]</sup>。Bcl-2 基因家族是决定细胞凋亡的重要因素,主要位于线粒体外膜、核被膜和内质网膜,Bcl-2 阻止促凋亡基因信号传递<sup>[15]</sup>。因此,如何有效地调控在细胞凋亡过程中起关键作用的 p21、p53、Bcl-2 基因表达,可能是有效延缓软骨细胞凋亡的有效方法之一。

本实验结果显示,动态温热疏密波治疗后,关节软骨中细胞凋亡率、p21、p53 mRNA 相对表达水平,对照组、实验 2 组、实验 3 组明显低于模型组,实验 3 组明显低于对照组、实验 2 组;关节软骨中细胞 p21、Bcl-2 mRNA 相对表达水平,对照组、实验 2 组、实验 3 组明显高于模型组,实验 3 组明显高于对照组、实验 2 组,表明动态温热疏密波能有效下调关节软骨细胞 p53 mRNA 表达,上调关节软骨细胞 p21、Bcl-2 mRNA 表达,从而抑制软骨细胞凋亡,延缓关节软骨的退变。

#### 4 参考文献

[1] Swellam M, Mahmoud MS, Samy N, et al. Potential influence of interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism on knee osteoarthritis risk [J]. *Dis Markers*, 2010, 28 (5): 299.

[2] Brown DC, Boston RC, Farrar JT. Use of an activity monitor to detect response to treatment in dogs with osteoarthritis [J]. *J Am Vet Med Assoc*, 2010, 237(1): 66.

[3] 林木南,刘献祥,刘建华,等. OA 护膝干预膝骨性关节炎的临床效应分析[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2007, 15

(11): 12-15.

[4] 林木南,刘献祥,刘建华,等. 治疗型关节炎护膝对实验性骨关节炎氧自由基的影响[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2009, 17(5): 19-21.

[5] 林木南,吴明霞,刘献祥,等. 治疗型关节炎护膝干预膝骨性关节炎患者滑液细胞因子的研究[J]. *中国骨与关节损伤杂志* 2010, 25(6): 505-508.

[6] 刘献祥,李西海,周江涛. 改良 Hulth 造模法复制膝骨性关节炎的实验研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2005, 25(12): 1104-1108.

[7] 林木南,刘献祥,李西海,等. 治疗型关节炎护膝对实验性骨关节炎组织形态学的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(4): 611-616.

[8] Little CB, Barai A, Burkhardt D, et al. Matrix metalloproteinase 13-deficient mice are resistant to osteoarthritic cartilage erosion but not chondrocyte hypertrophy or osteophyte development[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(12): 3723.

[9] Chen J, Gupta T, Barasz JA, et al. Analysis of microarchitectural changes in a mouse temporomandibular joint osteoarthritis model[J]. *Arch Oral Biol*, 2009, 54(12): 1091.

[10] Weng LH, Wang CJ, Ko JY, et al. Control of Dkk-1 ameliorates chondrocyte apoptosis, cartilage destruction, and subchondral bone deterioration in osteoarthritic knees[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(5): 1393.

[11] Almonte-Becerril M, Navarro-Garcia F, Gonzalez-Robles A, et al. Cell death of chondrocytes is a combination between apoptosis and autophagy during the pathogenesis of Osteoarthritis within an experimental model [J]. *Apoptosis*, 2010, 15(5): 631.

[12] Owen HC, Ahmed SF, Farquharson C. Chondrocyte p21 (WAF1/CIP1) expression is increased by dexamethasone but does not contribute to dexamethasone-induced growth retardation in vivo[J]. *Calcif Tissue Int*, 2009, 85(4): 326.

[13] Sesselmann S, Süder S, Voigt R, et al. DNA methylation is not responsible for p21WAF1/CIP1 down-regulation in osteoarthritic chondrocytes[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17(4): 507.

[14] Hashimoto S, Nishiyama T, Hayashi S, et al. Role of p53 in human chondrocyte apoptosis in response to shear strain [J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(8): 2340.

[15] Zaman F, Menendez-Benito V, Eriksson E, et al. Proteasome inhibition up-regulates p53 and apoptosis-inducing factor in chondrocytes causing severe growth retardation in mice[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(20): 10078.