

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.08.006

睾酮对雄兔膝关节炎预防作用的实验研究

熊华章, 刘毅, 吴术红, 邹刚

(遵义医学院附属医院骨一科, 遵义 563003)

【摘要】目的:探讨睾酮对雄兔膝关节炎(Osteoarthritis, OA)预防的作用。方法:将 18 只雄性家兔随机分为去势组、未去势组和睾酮补充组,每组 6 只,未去势组切除右膝关节前交叉韧带和内侧半月板,去势组和睾酮补充组在切除右膝关节前交叉韧带和内侧半月板同时切除双侧睾丸,睾酮补充组于术后第 3 周开始肌注十一酸睾酮,6 mg/kg,每 2 周 1 次,共 3 次,正常喂养 8 周后处死所有家兔取右股骨内侧髁行大体评估、切片用免疫组织化学法分析测定软骨细胞类胰岛素 1 号增长因子(Insulin-like growth factors, IGF-1)表达和关节软骨 Mankin 评分,测定不同时期血清总睾酮。结果:未去势组和睾酮补充组软骨细胞中 IGF-1 的表达高于去势组($P<0.05$)、Mankin 评分明显低于去势组($P<0.05$),未去势组和睾酮补充组 4 周和 8 周时血清总睾酮明显高于去势组($P<0.05$),差异有统计学意义。结论:睾酮对雄兔膝 OA 有预防作用。

【关键词】睾酮;去势;骨关节炎;雄兔

【中国图书分类法分类号】R684.3

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-10-02

Experimental study on preventive effects of testosterone on knee osteoarthritis in male rabbits

XIONG Huazhang, LIU Yi, WU Shuhong, ZOU Gang

(Department of Orthopaedics, the Affiliated Hospital, Zunyi Medical College)

【Abstract】Objective: To investigate the preventive effect of testosterone on knee osteoarthritis in male rabbits. Methods: Eighteen male rabbits were randomly divided into castration group, noncastration group and testosterone supply group ($n=6$). The rabbits in castration group underwent the excision of anterior cruciate ligament and the medial meniscus on the right knee joint while those in noncastration group and testosterone supply group underwent the excision of bilateral testicles along with the treatment in castration group. Testosterone undecanoate (6 mg/kg, once every two weeks, three times in total) was injected intramuscularly to rabbits in testosterone supply group at the third week after the operation. All rabbits were killed by gas embolism at the eighth week.

作者介绍:熊华章(1981-),男,住院医师,硕士,

研究方向:关节退行性疾病,运动医学。

通信作者:刘毅,男,教授,Email:13308529536@163.com。

基金项目:贵州省卫生厅资助项目(编号:D-285)。

Song Y, Kong B H, Liu P S, et al. Relationship between human telomerase reverse transcriptase transcriptional level and telomerase activity in three ovarian cancer cell lines[J]. Cancer, 2003, 22(5): 486-491.

[7] Lo Muzio L, Pannone G, Staibano S, et al. Survivin expression in oral squamous cell carcinoma[J]. Br J Cancer, 2003, 89(12): 2244-2248.

[8] Lo Muzio L, Farina A, Rubini C, et al. Survivin as prognostic factor in squamous cell carcinoma of the oral cavity[J]. Cancer Lett, 2005, 225(1): 27-33.

[9] Yagihashi A, Ohmura T, Asanuma K, et al. Detection of autoantibodies to survivin and livin in sera from patients with breast cancer[J]. Clin Chim Acta, 2005, 362(1-2): 125-130.

[10] Satoh K, Kaneko K, Hirota M, et al. Expression of survivin is correlated with cancer cell apoptosis and is involved in the development of human pancreatic duct cell tumors[J]. Cancer, 2001, 92(2): 271-278.

[11] Schmidt S M, Schag K, Müller M R, et al. Survivin is a shared tumor-associated antigen expressed in a broad variety of malignancies and recognized by specific cytotoxic T cells[J]. Blood, 2003, 102(2): 571-

576.

[12] Uemura N, Kodama S, Nomi N, et al. Correlation between anti-survivin antibody and survivin mRNA expression in head and neck cancer patients[J]. Acta Otolaryngol, 2010, 130(8): 959-965.

[13] Eto M, Kodama S, Uemura N, et al. Antibody responses to survivin and their clinical significance in patients with head and neck cancer[J]. Head Neck, 2007, 29(12): 1128-1135.

[14] Gumus E, Demirel G, Tanriverdi O, et al. Importance of serum p53 antibodies during follow-up after treatment of invasive bladder tumors[J]. Urol Int, 2004, 72(4): 292-298.

[15] Li Y, Karjalainen A, Koskinen H, et al. P53 autoantibodies predict subsequent development of cancer[J]. Int J Cancer, 2005, 114(1): 157-160.

[16] Ben-Mahrez K, Thierry D, Sorokine I, et al. Detection of circulating antibodies against c-myc protein in cancer patient sera[J]. Br J Cancer, 1988, 57(6): 529-534.

(责任编辑:关蕴良)

Macroscopic evaluation was performed on the articular cartilage of medial malleolus of femur. Insulin-like growth factors(IGF-1) immunohistochemical examination was performed in order to investigate the expression of IGF-1 in articular cartilage and the improved Mankin's scores was applied to test the serum levels of total testosterone at different stages. **Results:** Expressions of IGF-1 were higher in noncastration group and testosterone supply group than in castration group ($P<0.05$). Mankin's scores were lower in noncastration group and testosterone supply group than in castration group ($P<0.05$). The serum level of testosterone was lower in castration group than in noncastration group and testosterone supply group at the fourth and eighth week ($P<0.05$). **Conclusion:** Testosterone has preventive effect on knee osteoarthritis in male rabbits.

【Key words】testosterone; castration; osteoarthritis; male rabbit

随着年龄的增加,骨关节炎(Osteoarthritis, OA)发病率随之增加,研究发现关节软骨的退变程度与年龄因素直接相关,一旦发生 OA 后很难逆转,目前对 OA 的预防尚缺乏有效预防措施,在临床和基础研究中,睾酮与 OA 之间的关系尚存在争论^[1-5],本实验运用切除雄兔右膝前交叉韧带和内侧半月板建立膝关节不稳模型,探讨睾酮与雄性动物膝 OA 之间关系,旨在研究预防 OA 的新方法。

1 材料与方法

1.1 材料

实验动物:健康成年清洁雄性家兔 18 只,体重 2.0~3.0 kg,购自遵义医学院动物实验基地养殖场。实验试剂和仪器:SABC 免疫组化染色试剂盒(产品编号:SA2002-兔 IgG),武汉博士德公司。类胰岛素 1 号增长因子(Insulin-like growth factors, IGF-1)单克隆抗体(BA0498),武汉博士德公司。DAB 显色剂(产品编号:ZLI-9031/9032/903),北京中杉公司。Testosterone 检测试剂(EIA1448),德国 DRG。十一酸睾酮(思特珑)(生产批号:090402),浙江仙琚制药厂。MILLI-Q 超纯水器,法国 MILLIPORE 公司。Leica SM2000R 病理组织切片机,德国。Image-proplus6.0 图像分析系统软件,美国。Nikon E200 型显微镜,日本。IMMULITE 自动生化仪,美国 DPC 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组 将 18 只雄性家兔随机分为未去势组、去势组和睾酮补充组,每组 6 只。

1.2.2 改良 Hulth 模型的建立^[6] 耳缘静脉注射 3%戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉,无菌条件下切开右膝正中皮肤 4.0 cm 左右,暴露右膝关节腔,分别切除右膝前交叉韧带+内侧半月板,缝合皮肤。

1.2.3 去势模型建立^[7] 膝关节前交叉韧带和内侧半月板后会阴部去皮,碘酒消毒,75%乙醇脱碘。经阴囊中部切开约 2 cm 纵行切口,分离双侧睾丸包膜,去势组和睾酮补充组结扎睾丸动脉及输精管后切除睾丸,缝合皮肤,未去势组仅分离

双侧睾丸包膜后即缝合皮肤。所有实验动物手术中和术后肌注青霉素(20 万 U/kg)×3 d,预防感染,同等条件下摄食饮水,分笼饲养,并且每日驱赶,睾酮补充组术后第 3 周开始肌注生理剂量的十一酸睾酮,6 mg/kg,每 2 周 1 次,共 3 次。

1.2.4 标本的制备 于 0、4、8 周早晨 8:00 抽血测定睾酮(血清总睾酮测定遵义医学院附属医院生化室测定)。造模后 8 周后用空气栓塞法处死所有家兔,取右股骨股骨髁用生理盐水冲洗干净,大体观察关节软骨的完整性和色泽;然后依次 40 g/L 多聚甲醛固定 24 h,15%乙二胺四乙酸脱钙 6 周,常规脱水、石蜡包埋、行 5 μ m 厚度切片,苏木精-伊红染色、Safranin-O 染色和免疫组化染色。苏木精-伊红染色:石蜡切片二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化后,苏木素染色,盐酸酒精分化,饱和碳酸锂返蓝,伊红,梯度酒精脱水,二甲苯透明,封固。显微镜下观察软骨结构和软骨细胞。Safranin-O 染色:石蜡切片二甲苯脱蜡,梯度酒精水化后,水洗,1%的 Safranin-O 染色 5 min,水洗,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片。显微镜下观察基质异染性和潮线的完整性。免疫组化染色(SABC 法):石蜡切片二甲苯脱蜡,梯度酒精水化,双氧水灭活内源性酶,水浴修复抗原 20 min,山羊血清孵育 30 min,滴加一抗(1:50 PBS 液配制)50 μ l,4 $^{\circ}$ C 保湿盒内过夜,37 $^{\circ}$ C 保湿盒内复温 50 min,水洗 3 次,滴加二抗 50 μ l(PBS 液 1 ml+生物素化山羊小鼠 IgG 10 μ l 配制)保湿盒内 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min,水洗,滴加三抗 50 μ l(pH 值 7.5 的 PBS 液 1 ml+试剂 SABC 10 μ l 配制)保湿盒内 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min,洗净,DAB(蒸馏水 1 ml+A、B、C 试剂各 1 滴)显色,苏木精复染,梯度酒精脱水,二甲苯透明,封固。

1.2.5 主要观察指标 2 位独立的观察者根据 Mankin 评分标准^[8]分别对苏木精-伊红染色和 Safranin-O 染色标本评分;显微镜下观察免疫组化染色标本,以细胞核或细胞浆出现棕黄色颗粒为阳性细胞,将处于同一组别的每只动物相同侧的标本任取 1 张在显微镜下做定性观察,并随机取 10 个视野记阳性细胞总数;于 0、4、8 周早晨 8:00 抽血测定血清总睾酮。

1.3 统计学处理

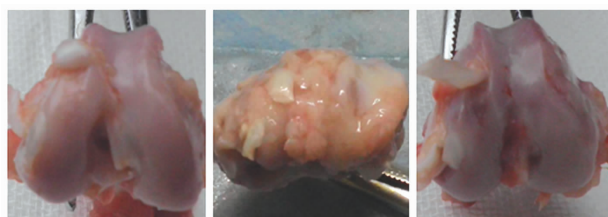
计量资料满足正态分布的以 $\bar{x} \pm s$ 表示、非正态分布数据以 $M(Q_L-Q_U)$ 表示,血清总睾酮、关节软骨 Mankin 评分和关节软骨 IGF-1 表达的比较采用 SPSS 18.0 统计软件行多组比

较的秩和检验,并进行两两比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大体标本观察

未去势组右膝关节稍肿大,关节软骨晦暗,局部可见裂隙,溃疡形成。去势组右膝关节肿大明显,色泽变暗,软骨菲薄,表面粗糙,部分软骨剥脱,内外侧髁边缘骨赘明显骨赘形成。睾酮补充组右膝关节肿大,关节软骨面失去透明光泽,软骨层变薄,关节面局部可见弹坑样改变,未见骨赘形成。见图1。



A. 未去势组 B. 去势组 C. 睾酮补充组
A. 关节面平滑,裂隙形成;B. 关节面不平整,软骨剥脱,股骨髁边缘骨赘形成;C. 软骨面色泽晦暗,关节面可见弹坑样改变

图 1 不同组兔关节软骨大体观察

Fig.1 Macroscopic evaluation of articular cartilage in different groups

2.2 血清总睾酮的计量分析

0 周(去势前)时各组血清总睾酮无明显差异;4 周和 8 周时去势组明显低于未去势组和睾酮补充组,未去势组与高于睾酮补充组,见表 1。

表 1 雄兔去势组与未去势组和睾酮补充组血清总睾酮水平比较
($\bar{x} \pm s$, nmol/L)

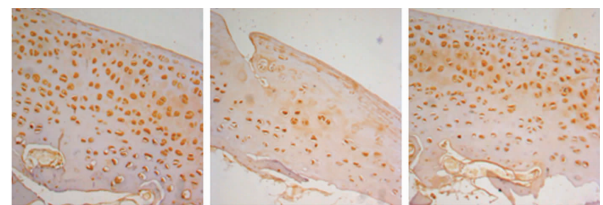
Tab.1 Comparison of serum level of testosterone among groups of castration, noncastration and testosterone supply
($\bar{x} \pm s$, nmol/L)

组别	血清总睾酮水平		
	0周(去势前)	4周	8周
去势组	15.00 ± 0.91	0.70 ± 0.21	0.60 ± 0.11
未去势组	4.80 ± 0.91	4.70 ± 0.60■	5.00 ± 1.10■
睾酮补充组	4.40 ± 0.70	13.90 ± 1.10■	14.10 ± 0.50■

注:■,与去势组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)

2.3 IGF-1 表达阳性细胞计量分析

IGF-1 表达阳性细胞细胞核呈均匀棕黄色颗粒,3 组均有阳性颗粒,未去势组和睾酮补充组软骨内棕黄色颗粒密集,全层均匀表达,去势组表层、移行层和钙化层表达很少或无,放射层稀疏表达,见图 2。去势组、未去势组和睾酮补充组关节软骨 IGF-1 表达结果见表 2。



A. 未去势组 B. 去势组 C. 睾酮补充组
A. 全层均匀表达且密集;B. 表达稀疏,软骨缺损周围、表层和移行层几乎无表达;C. 全层软骨可见密集表达

图 2 不同组兔关节软骨免疫组织化学染色 IGF-1
(阳性细胞)的表达(200×)

Fig.2 Expressions of IGF-1 (positive cells) among different groups by immunohistochemical staining of articular cartilage (200 ×)

表 2 去势组、未去势组和睾酮补充组关节软骨细胞 IGF-1
(阳性细胞总数)表达

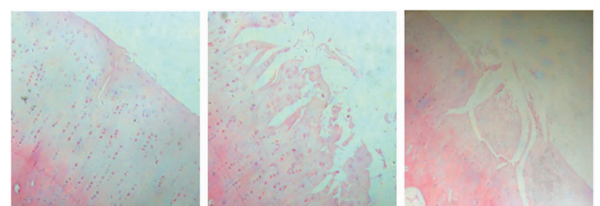
Tab.2 Comparison on expressions of IGF-1 (total number of positive cells) among groups of castration, noncastration and testosterone supply

去势组 (n=6)	阳性细胞 总数	未去势组 (n=6)	阳性细胞 总数	睾酮补充 组(n=6)	阳性细胞 总数
1	392.0	1	1 483.0	1	1 237.0
2	311.0	2	1 445.0	2	1 676.0
3	415.0	3	1 321.0	3	9 051.0
4	502.0	4	1 143.0	4	5 561.0
5	279.0	5	1 224.0	5	3 581.0
6	298.0	6	1 186.0	6	5 021.0
M	351.5	-	1 272.5	-	430.0
(Q_L-Q_U)	(293.3~ 436.8)		(1 175.3~ 1 454.5)♦		(1 154.3~ 1 586.0)♦

注:♦,与去势组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)

2.4 关节软骨 Mankin 评分

未去势组软骨表面可见不规则裂隙,细胞数量弥漫性增多,基质无失染或轻度失染,潮线完整;去势组软骨表面裂隙深达放射层,对照组软骨细胞数目明显减少,基质中度至重度失染,潮线不完整;睾酮补充组软骨表面局部可见裂隙,细胞数量如常,基质轻度失染,潮线完整。见图 3、4。去势组、未去势组和睾酮补充组关节软骨 Mankin 评分结果见表 3。



A. 未去势组 B. 去势组 C. 睾酮补充组
A. 软骨表面可见小裂隙,深达移行层,软骨细胞数量如常;B. 关节表面不光滑,可见裂隙深达放射层,出现簇集样细胞团;C. 软骨表面局部可见裂隙形成,深达放射层,软骨细胞簇集样改变

图 3 不同组兔关节软骨苏木精-伊红染色(200×)

Fig.3 Hematoxylin-eosin staining of articular cartilage in different groups(200×)



A. 未去势组 B. 去势组 C. 睾酮补充组

A. 基质染色轻度失染, 潮线尚完整; B. 基质中度至重度失染, 潮线欠完整; C. 基质染色轻度失染, 潮线完整

图 4 不同组兔关节软骨番红染色 (200 ×)

Fig.4 Safranin-O staining of articular cartilage in different groups (200 ×)

表 3 去势组与未去势组、睾酮补充组膝关节软骨 Mankin 评分比较

Tab.3 Comparison of Mankin's scores among groups of castration, noncastration and testosterone supply

去势组 (n=6)	Mankin 评分	未去势组 (n=6)	Mankin 评分	睾酮补充 组 (n=6)	Mankin 评分
1	11.0	1	8.0	1	4.0
2	12.0	2	5.0	2	6.0
3	8.0	3	4.0	3	5.0
4	12.0	4	4.0	4	4.0
5	12.0	5	4.0	5	5.0
6	12.0	6	4.0	6	6.0
M	12.0 (10.3~	-	4.0 (4.0~	-	5.0 (4.0~
(Q_L-Q_U)	12.0)		5.8) ▲		6.0) ▲

注: ▲, 与去势组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)

3 讨论

3.1 OA 模型的建立

模型的建立与选择是研究膝 OA 病理机制及防治的必要手段。本实验采用改良 Hulth 法是一种经典的 OA 造模方法^[9]。造模后 8 周取标本观察, 去势组大体观察股骨髁软骨剥脱, 边缘骨赘形成, 形成中晚期 OA; 未去势组关节表面仅见小裂隙, 无骨赘形成、软骨外露, 2 组间 OA 的严重程度明显不同; 关节软骨 Mankin 评分, 去势组明显高于未去势组和睾酮补充组, 表明未去势组和睾酮补充组 OA 严重程度较去势组轻, 组间存在差异; 大体评估和组织学观察说明预期 OA 模型成功建立, 且实验结果与本研究设计的初衷相符, 睾酮对 OA 的形成有预防作用。

3.2 睾酮与 IGF-1

李哲海等^[9]研究认为, IGF-1 在兔 OA 模型软骨缺损严重的部位较完整部位表达明显增多; 而在病变程度相同的部位, 病史长者较病史短者表达明显

增多。软骨缺损越重, IGF-1 表达越高, 呈正反馈调节的表现。在本实验中去势组关节软骨缺损较未去势组和睾酮补充组严重, 但 IGF-1 在关节软骨中表达, 去势组不如未去势组和睾酮补充组增加多, 表明睾酮可能有促进 OA 软骨中 IGF-1 表达的作用。Maor 等^[10]以睾酮培养游离大鼠下颌髁状突也得出睾酮能够增加软骨中 IGF-1 的表达, 能促进下颌髁状突软骨细胞 DNA 的合成, 增加成熟软骨细胞层 IGF-1、IGF-1-R 及二者 RNA 表达, 刺激软骨生长, 其过程可能由 IGF-1 调节。

3.3 IGF-1 与关节软骨

在成人软骨中 IGF-1 不但能促进软骨细胞分裂增殖, 而且能增强细胞功能, 促进蛋白多糖及 II 型胶原的合成^[11-16], 利于软骨修复, 维持细胞表型; 当软骨缺损时, IGF-1 能促进透明软骨细胞生长, 修复缺损区软骨组织^[17,18]; IGF-1 亦有阻止软骨基质中能降解蛋白多糖的金属蛋白酶表达的作用, 从而起到阻止蛋白多糖丢失的作用, 即使白细胞介素-1 (能够抑制蛋白多糖合成) 存在时, IGF-1 仍能发挥作用^[19,20]。本研究结果结合既往文献, 表明睾酮有增加 IGF-1 的表达, 促进关节软骨软骨细胞增殖, 最终发挥阻止关节软骨退变的作用。

3.4 睾酮与 OA

Holmdahl 等^[11]研究认为给予 DBA/1 雄鼠 (4 月龄能够自发产生关节炎) 注射睾酮, 4 月龄后 DBA/1 雄鼠未见明显 OA 形成, 结论认为睾酮对 DBA/1 雄鼠性 OA 的形成有预防作用。Ganesan 等^[21]在去势诱导鼠 OA 模型中用二氢睾酮 (25 mg) 局部皮下注射能够降低 TNF- α 和基质金属蛋白酶, 能够减少网状组织的破坏、胶原和糖胺聚糖的丢失, 说明二氢睾酮能阻止 OA 的进展。Koelling 等^[22]研究认为睾酮对男性晚期 OA 患者关节软骨组织的再生潜能有积极的作用; 杨仁轩等^[23]研究认为对血清睾酮低下的绝经女性患者, 适当补充雄激素有防治 OA 的作用。本研究通过去势建立去势模型, 0 周 (去势前) 测定血清总睾酮去势组、未去势组和睾酮补充组无明显差异, 4 周和 8 周时去势组血清总睾酮明显低于未去势组和睾酮补充组, $P < 0.05$, 未去势组和睾酮补充组无明显差异。大体观察、节软骨 Mankin 评分、OA 软骨细胞中 IGF-1 表达未去势组和睾酮补充组明显优于去势组, 与上述文献所得结论一致, 睾酮能够延缓 OA 模型软骨的退变, 其机制可能通过上调 OA 软骨细胞中 IGF-1 的表达, 以促进软骨的修复和阻

止关节软骨退变,该结论的逐渐阐明将为 OA 的预防提供一种的思路,但应用到人尚需谨慎。

参 考 文 献

- [1] Holmdahl R, Jansson L, Andersson M, et al. Genetic hormonal and behavioural influence on spontaneously developing arthritis in normal mice[J]. Clin Exp Immunol, 1992, 88(3): 467-472.
- [2] Koelling S, Miosge N. Sex differences of chondrogenic progenitor cells in late stages of osteoarthritis[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(4): 1077-1187.
- [3] Ganesan K, Tiwari M, Balachandran C, et al. Estrogen and testosterone attenuate extracellular matrix loss in collagen-induced arthritis in rats[J]. Calcif Tissue Int, 2008, 83(5): 354-364.
- [4] Karsdal M A, Byrjalsen I, Leeming D J, et al. Tibolone inhibits bone resorption without secondary positive effects on cartilage degradation[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2008, 18(9): 153.
- [5] Ma H L, Blanchet T J, Peluso D, et al. Osteoarthritis severity is sex dependent in a surgical mouse model[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2007, 15(6): 695-700.
- [6] 王云峰, 白人骁, 张 扬, 等. 改良 Hulth 模型复制膝不同时期骨关节炎的实验研究[J]. 天津医科大学学报, 2009, 19(3): 400-404.
- Wang Y F, Bai R X, Zhang Y, et al. Experimental study on replicating knee osteoarthritis at different stages by modified Hulth's modeling method[J]. Journal of Tianjin Medical University, 2009, 19(3): 400-404.
- [7] 武 强, 李小鹰, 胥学伟. 外源性睾酮对去睾丸家兔性激素以及血脂和载脂蛋白水平的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2003, 19(3): 295-297.
- Wu Q, Li X Y, Xu X W. Effects of serum testosterone level on plasma lipid and apolipoprotein spectrum in orchietomized rabbits[J]. Chinese Journal of Applied Physiology, 2003, 19(3): 295-297.
- [8] Vander Slujs T A, Gecsk R G, Vander Linden A J, et al. The reliability of the mankin score for osteoarthritis[J]. Orthop Res, 1992, 10(2): 58-61.
- [9] 李哲海, 武宇赤, 张霄雁, 等. TGF- β 1 和 IGF-I 在兔骨关节炎模型软骨中的表达及其意义[J]. 中国冶金工业医学杂志, 2007, 24(6): 637-640.
- Li Z H, Wu Y C, Zhang X Y, et al. Expression and significance of IGF-I, TGF- β 1 in the chondrocyte of OA model in rabbit[J]. Chinese Medical Journal of Metallurgical Industry, 2007, 24(6): 637-640.
- [10] Maor G, Segev Y, Phillip M. Testosterone stimulates insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-I-receptor gene expression in the mandibular condyle—a model of endochondral ossification[J]. Endocrinology, 1999, 140(4): 1901-1910.
- [11] 彭 程, 肖 涛, 罗远明, 等. IGF-I 对 IL-1 诱导的兔关节软骨细胞 NO 和 PGE2 的影响[J]. 中南大学学报 (医学版), 2008, 33(3): 197-207.
- Peng C, Xiao T, Luo Y M, et al. Effect of IGF-I on NO and PGE2 in rabbit articular chondrocytes induced by IL-1[J]. Journal of Central South University (Medical Science), 2008, 33(3): 197-207.
- [12] Macrae V E, Horvat S, Pells S C, et al. Increased bone mass altered trabecular architecture and modified growth plate organization in the growing skeleton of SOCS2 deficient mice[J]. Cell Physiol, 2009, 218(2): 276-284.
- [13] Segev Y, Berdugo-Boura N, Porati O, et al. Upper airway loading induces growth retardation and change in local chondrocyte IGF-1 expression is reversed by stimulation of GH release in juvenile rats[J]. Appl Physiol, 2008, 105(5): 1602-1609.
- [14] 陈北北. 体外培养软骨细胞与生长因子的加入[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(46): 8567-8570.
- Chen B B. Effect of growth factors on in vitro cultured articular chondrocytes[J]. Journal Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2010, 14(46): 8567-8570.
- [15] Kiepe D, Van Der Pas A, Ciarmatori S, et al. Defined carboxy-terminal fragments of insulin-like growth factor (IGF) binding protein-2 exert similar mitogenic activity on cultured rat growth plate chondrocytes as IGF-1[J]. Endocrinology, 2008, 149(10): 4901-4911.
- [16] Fernandez-Cancio M, Esteban C, Carres cosa A, et al. IGF-I and not IGF-II expression is regulated by glucocorticoids in human fetal epiphyseal chondrocytes[J]. Growth Horm IGF Res, 2008, 18(6): 497-505.
- [17] 朱建林, 袁显开. 转化生长因子 β 及胰岛素样生长因子-1 修复关节软骨缺损的实验观察[J]. 中华损伤与修复杂志, 2009, 4(2): 14-16.
- Zhu J L, Yuan X K. Effect of transforming growth factor- β and insulin-like growth factor-1 on the repair of articular cartilage defects[J]. Chinese Journal of Injury Repair and Wound Healing, 2009, 4(2): 14-16.
- [18] 魏优秀, 韦 卓, 刘 平, 等. 注射胰岛素样生长因子-1、转化生长因子- β 1 治疗关节软骨缺损及预防骨关节炎的实验研究[J]. 中国临床保健杂志, 2010, 13(3): 274-277.
- Wei Y X, Wei Z, Liu P, et al. Experimental study on the repair of articular cartilage defects and prevention on osteoarthritis by intra-articular injection of IGF-1, TGF- β 1[J]. Chinese Journal of Clinical Healthcare, 2010, 13(3): 274-277.
- [19] Zhang M, Zhou Q, Liang Q Q, et al. IGF-1 regulation of type II collagen and MMP-13 expression in rat endplate chondrocytes via distinct signaling pathway[J]. Osteoarthritis Cartilage, 2009, 17(1): 100-106.
- [20] 柏 涛, 舒 钧, 王建龙, 等. 兔自体细胞-载体复合物修复关节软骨缺损的实验研究[J]. 中国修复外科重建杂志, 2008, 22(4): 487-491.
- Bai T, Shu J, Wang J L, et al. Experimental research on repair of rabbit articular cartilage defects with composite of autologous cell carriers[J]. Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery, 2008, 22(4): 487-491.
- [21] 杨仁轩, 王昭佩, 吴 淮, 等. 绝经女性血清睾酮与骨关节炎之间的相关性研究[J]. 广东医学, 2007, 28(7): 1138-1139.
- Yang R X, Wang Z P, Wu H, et al. Correlation study between serum testosterone of menopausal women and osteoarthritis[J]. Guangdong Medical Journal, 2007, 28(7): 1138-1139.

(责任编辑: 唐秋姗)