

·基础研究·

低强度脉冲超声波对软骨细胞中金属蛋白酶-13与Ⅱ型胶原的影响*

安恒远¹ 李雪萍^{1,2} 王大新³ 程 凯¹ 林 强¹ 林爱翠¹ 高明霞¹

摘要

目的:研究低强度脉冲超声波(LIPUS)对体外培养软骨细胞中金属蛋白酶-13(MMP-13)与Ⅱ型胶原的影响。

方法:选用6只1月龄的新西兰大白兔膝关节软骨进行体外培养,传至第二代,分为对照组与4个LIPUS辐射组,LIPUS强度分别是20mW/cm²、30mW/cm²、40mW/cm²、50mW/cm²。每天辐射20min,连续10d,每天细胞计数;分别在第5天及第10天收集细胞,采用Western-blot技术、qRT-PCR技术检测软骨细胞中MMP-13、Ⅱ型胶原的含量,并分析两者之间的相关性。

结果:①与对照组相比,各LIPUS辐射组软骨细胞数均明显增高($P<0.05$),其中40mW/cm²组软骨细胞数最高,与其他各辐射组比较有显著性差异($P<0.05$);②细胞培养5d和10d后,MMP-13含量均较第0天明显升高($P<0.05$)。但各辐射组MMP-13含量均较其对照组显著降低($P<0.05$);其中40mW/cm²组MMP-13含量最低($P<0.05$);③细胞培养5d和10d后,Ⅱ型胶原表达量均较第0天明显降低($P<0.05$)。但各辐射组Ⅱ型胶原表达量均较其对照组显著升高($P<0.05$)。其中40mW/cm²组Ⅱ型胶原表达量最高($P<0.05$);④MMP-13与Ⅱ型胶原含量呈负相关($r=-0.757, P<0.05$)。

结论:不同强度的LIPUS体外辐射可促进软骨细胞增殖,抑制MMP-13的表达,延缓Ⅱ型胶原的降解。

关键词 低强度脉冲超声波;软骨细胞;金属蛋白酶;Ⅱ型胶原

中图分类号:R454.3 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2011)-03-0226-06

Effects of low intensity pulsed ultrasound on MMP-13 and type II collagen of chondrocytes/AN Hengyuan, LI Xueping, Wang Daxin, et al. //Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2011, 26(3): 226—231

Abstract

Objective: To study the effects of low intensity pulsed ultrasound(LIPUS) on matrix metalloproteinase(MMP-13) and type II collagen of chondrocytes.

Method: The chondrocytes were obtained from knee joints of six one-month old rabbits. Chondrocytes were divided into 5 groups: control group and 4 LIPUS groups with intensity of 20mW/cm², 30mW/cm², 40mW/cm², 50mW/cm² respectively. During the next cultured 10d, the chondrocytes were irradiated 20min and cells were counted every day. On the 5th d and 10th d, cells were collected and the MMP-13 and type II collagen content were detected by Western-blot and qRT-PCR. The correlation between MMP-13 and type II collagen was analyzed.

Result: ①Contrasting with control group, the chondrocytes number was higher in each LIPUS group($P<0.05$) and the number was significantly higher in 40mW/cm² group ($P<0.05$). ②MMP-13 contents were higher at the 5th d and 10th d than that at the 0d($P<0.05$). After irradiated 5d and 10d, the content of MMP-13 in each LIPUS group was remarkable lower than that in control group($P<0.05$) and in 40mW/cm² group the content of MMP-13 was the lowest ($P<0.05$). ③After cultured 5d and 10d, type II collagen content was lower than that at the 0d($P<$

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2011.03.006

*基金项目:国家973项目课题 (2007CB936104)

1 南京医科大学附属南京第一医院康复医学科, 江苏南京, 210006; 2 通讯作者; 3 扬州大学临床医学院

作者简介:安恒远,男,硕士研究生; 收稿日期:2010-10-26

0.05). The content of type II collagen in each LIPUS groups was remarkable higher than that in control group ($P < 0.05$) and in $40\text{mW}/\text{cm}^2$ group the content of type II collagen was the highest ($P < 0.05$). ④ The correlation between MMP-13 and type II collagen content was negative correlation ($r = -0.757, P < 0.05$).

Conclusion: Different intensity of LIPUS could promote chondrocyte proliferation and inhibit the expression of MMP-13 and postpone the degradation of type II collagen.

Author's address Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing, 210006

Key word low intensity pulsed ultrasound; chondrocytes; matrix metalloproteinase; type II collagen

骨性关节炎(osteoarthritis, OA)是常见的关节疾病,且发病率随年龄的增长而增高^[1-2],也是老年人致残的一个主要原因。骨性关节炎的治疗手段很多,但是大多都有不同程度的创伤性及副作用,因此研究治疗骨性关节炎的非创伤性治疗手段在不断地涌现。近十年来在应用低强度脉冲超声波(low intensity pulsed ultrasound, LIPUS)对骨折及骨不连的临床研究中,发现LIPUS可促进体外软骨细胞增殖,并可促进动物软骨修复^[3-4]。低强度脉冲超声波所产生的热效应极低,其生物学效应主要利用超声波的机械效应^[5]。目前已有研究证实了LIPUS促进软骨细胞增殖的作用,本文旨在从分子水平研究LIPUS对软骨细胞金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP-13)、II型胶原表达的影响及两者之间的相关性,探讨LIPUS促进软骨细胞增殖可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物及材料

1.1.1 实验动物:健康的1月龄新西兰大白兔由南京市第一医院动物实验中心订购(青龙山动物饲养中心),体重(1000 ± 100)g,雌雄不限,普通级。

1.1.2 器材及试剂:低强度脉冲超声仪(Osteoarthritis III, 日本株式会社),胎牛血清(Gibico公司),高糖的DMEM培养基(凯基生物有限公司),胰蛋白酶(凯基生物有限公司),II型胶原酶(Life Sciences 货号:17101-015),鼠抗兔MMP-13抗体(Thermo scientific,货号:MS-825-PO),鼠抗兔II型胶原酶抗体(博士德,货号:BA0533),PVDF膜(PALL,型号:65421),全蛋白提取试剂盒(凯基生物有限公司),TrizolRNA提取试剂盒(凯基生物有限公司),qPT-PCR试剂盒(凯基生物有限公司),qRT-PCR仪(AMI7500,产地美国),Western电泳仪(Bio-Rad,美

国,型号:164-5051)。

1.2 方法

1.2.1 软骨细胞分离及培养:无菌条件下取1月龄新西兰大白兔双膝关节,浸泡至双抗液中(1%的链霉素及青霉素),尽快转移至超净台中,取膝股骨髁关节表面软骨,置于盛有PBS液的培养皿中冲洗并剪切至 1.0mm^3 的小碎片,再冲洗2—3遍,加入0.25%胰蛋白酶2ml消化半小时,再加入0.25%II型胶原酶3ml,于 37°C 恒温箱中消化4h,每半小时震荡一次^[6-8],待消化彻底后加入3ml培养基终止消化,予800转/min离心10min,弃上清,用PBS缓慢冲洗2次,加入完全的高糖DMEM培养基(10%的胎牛血清)吹打均匀后种植于培养瓶内,置于5% CO_2 、95%空气 37°C 恒温培养箱中。每天光学显微镜观察细胞的贴壁情况,细胞铺满30%—40%时,换液去除培养基中的死细胞,细胞铺满80%—90%时传代,传至第二代,观察细胞形态,正常第二代软骨细胞呈圆形、梭形、多边形。

1.2.2 软骨细胞表型鉴定:用PBS洗两遍,然后加入4%的多聚甲醛固定2h;PBS覆盖15min,再用PBS洗3遍;在爬片上加1%的triton-100,室温放置15min;PBS浸泡5min,清洗3次;加3% H_2O_2 -甲醇溶液处理切片15min;PBS再浸泡5min,清洗3次;加入一抗(II型胶原抗体1:100)100 μl , 37°C ,湿盒孵育2h;PBS浸泡5min,清洗3次;加入增强剂50 μl ,室温湿盒孵育20min;PBS浸泡5min,清洗3次;加入HRP标记二抗50 μl ,室温 37°C ,孵育30min;PBS浸泡5min,清洗5次;2滴新鲜配制的DAB溶液显色;镜下观察染色深浅,染好立即中止,用自来水轻柔冲洗15min,用蒸馏水终止显色反应;将切片放入苏木素染液复染,染色30min,用蒸馏水冲洗干净;然后放入盐酸甲醇溶液中封片,立即用蒸馏水冲洗干净。分别用70%乙醇中浸泡5min;85%乙醇中浸泡

5min; 95%乙醇中浸泡5min; 无水乙醇中浸泡5min。用二甲苯浸泡10min, 更换二甲苯后再浸泡10min。晾干后在切片上加中性树胶, 加盖玻片。光学显微镜镜下可见软骨细胞胞核深染, 胞质为大量II型胶原染色, 呈棕色。

1.2.3 LIPUS辐射:应用HT2009-1型低强度脉冲超声仪(日本, 伊藤公司), FREE模式, 通断比20%, 频率为3MHz, 辐射强度分别为: 20mW/cm²、30mW/cm²、40mW/cm²、50mW/cm²。探头置于培养皿下方, 探头与培养皿之间涂以耦合剂, 耦合剂厚度不超过1mm。

1.3 主要检测指标

1.3.1 软骨细胞增殖检测:接种第二代软骨细胞于六孔板中, 每孔接种 2×10^3 个细胞, 对照组接种10个孔, 辐射组接种10个孔, 分别接受LIPUS辐射。辐射在接种后第二天(即细胞贴壁后开始)开始, 计数从辐射第二天相同的时间开始计数; 对照组每天在相同的条件下放置20min, 在与辐射组相同的时间点计数。细胞收集后, 采用计数板计数法对所培养细胞进行计数, 连续计数10d。

1.3.2 Western-blot技术:于第5天和第10天收集细胞提取全蛋白。5天取材的细胞每瓶接种 1.0×10^5 个细胞, 10天取材的细胞每瓶接种 2.0×10^4 个细胞。将收集的细胞, 加入裂解液200 μ l, 待裂解完全, 13000转/min离心10min; 取10 μ l上清测蛋白浓度, 其余上清加上样缓冲液煮沸变性待用。取蛋白总量为40 μ g样品采用SDS-PAGE电泳, 浓缩胶恒压80V电泳, 分离胶恒压100V。电泳结束, 采用Bio-Rad Mini湿式转移电泳槽以恒流200mA转膜2h。PVDF膜在5%的脱脂牛奶, 恒温37℃中封闭2h; 加II型胶原及MMP-13抗体(羊抗兔单克隆抗体1:500), 4℃孵育过夜; PBST漂洗滤膜4次, 每次5min; 加辣根过氧化物酶标记的二抗(1:5000), 37℃孵育2h, PBST漂洗滤膜4次, 每次5min; 按0.1ml/cm²显影液计算用量, 将显影液加于PVDF膜上, 室温放置1min。用保鲜膜将膜包好(尽量避免气泡)。暗室中迅速将膜蛋白贴在X光胶片上曝光, 洗片机中显影、洗像。调整曝光时间, 直至出现最佳条带, 然后进行灰度分析。

1.3.3 qRT-PCR技术:收集细胞后行全RNA提取,

25cm²的培养瓶中加入1ml TRIzol, 充分裂解, 加入0.2ml氯仿, 上下振荡15s, 室温静置3min; 4℃ 12000转/min离心15min; 收集上清水相, 加入等体积的异丙醇, 轻轻混匀, 室温静置10min; 4℃ 12000转/min离心10min; 去除上清, 加入1ml 75%的乙醇(用DEPC处理过的水配制), 轻轻混匀。4℃ 12000转/min离心10min; 吸尽上清; 室温干燥沉淀3min加入40 μ l的无RNase水溶解RNA沉淀, 待完全溶解后于-70℃保存。RT反应(20 μ l体系): 依次加入RNA总量5 μ g, Oligo dT(10 μ M)1 μ l, dNTPs (10mM) 1 μ l, 无核酸酶的双蒸水至总体积15.5 μ l; 65℃保温5min, 然后冰浴5min; 往上述步骤中的0.2ml PCR管依次加入: RNase抑制剂(40 μ / μ l)0.5 μ l, 10 $\times$ AMV Reaction Buffer 2 μ l, DTT (1M)1 μ l, 逆转录酶(AMV)1 μ l, 混匀, 然后2000转/min离心20s; 先在37℃保温1h, 然后70℃保温15min; RT产物进行实时荧光定量检测。每个样品做3个复孔。反应总体积为25 μ l: 2X的RTmix 12.5 μ l, 模板(cDNA稀释10倍)1 μ l, GAPDH, II型胶原或MMP-13引物F和R 5pmol/ μ l mix 1 μ l, 18.2m Ω 水10.5 μ l, 混合均匀。反应程序: 95℃ 15min, (95℃ 30s, 55℃ 30s, 72℃ 30s 此步骤做40个循环), 72℃ 10min, 进行数据分析。各基因的引物序列及产物片段长度, 见表1。

表1 qRT-PCR扩增所用引物及扩增片段长度

cDNA	引物链	引物序列(5'-3')	产物片段长度(bp)
GAPDH	正链	GCAGAAGGAGATCACAGCCCT	136
	反链	GCTGATCCACATCTGCTGGAA	
II型胶原酶	正链	AGCACGTGTGTTTGGGGAG	84
	反链	CGTTGGCAGTGTGGGAGGC	
MMP-13	正链	TGCCCTTATTTTATGTTTCC	106
	反链	TTCCGCTTCCTAGTCAGTTG	

1.4 统计学分析

采用SPSS13.0统计软件进行分析。组内比较采用配对样本t检验, 组间比较采用单因素方差分析, MMP-13与II型胶原蛋白的相关性采用Pearson相关性分析。 $P < 0.05$ 表示差异显著。

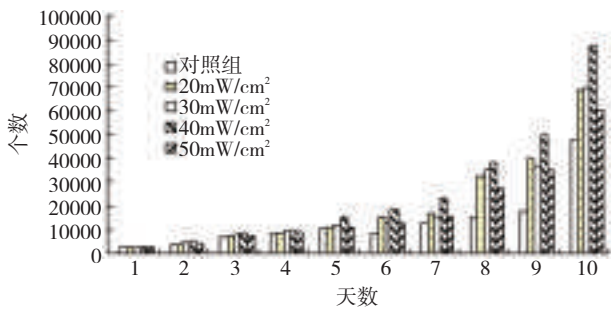
2 结果

2.1 LIPUS对软骨细胞增殖的影响

各辐射组软骨细胞细胞数均较对照组软骨细胞细胞数增高, 各辐射组与对照组相比有显著性差异

$P<0.05$;各辐射组中以 $40\text{mW}/\text{cm}^2$ 组软骨细胞细胞数最多,与各组比较有显著性差异 ($P<0.05$),见图1。

图1 软骨细胞生长分析:软骨细胞增殖柱状图



各辐射组与对照组相比有显著性差异 ($P<0.05$);各辐射组中以 $40\text{mW}/\text{cm}^2$ 组软骨细胞细胞数最多,与各组比较有显著性差异 ($P<0.05$)。

表2 各组软骨细胞中MMP-13比较 (Western blot法, $\bar{x}\pm s$)

时间	对照组	$20\text{mW}/\text{cm}^2$	$30\text{mW}/\text{cm}^2$	$40\text{mW}/\text{cm}^2$	$50\text{mW}/\text{cm}^2$
第0天	0.537 ± 0.009	—	—	—	—
第5天	0.842 ± 0.006	0.929 ± 0.014^{①}	0.807 ± 0.010^{①}	0.755 ± 0.05^{①②}	0.910 ± 0.018^{①}
第10天	1.192 ± 0.012	1.162 ± 0.019^{①}	1.106 ± 0.011^{①}	1.002 ± 0.009^{①②}	1.123 ± 0.017^{①}

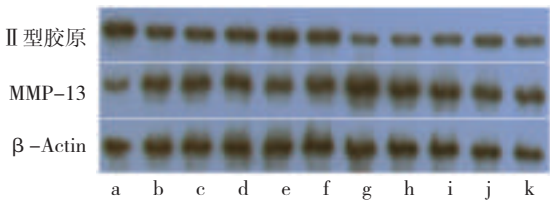
①与对照组相比 $P<0.05$;② $40\text{mW}/\text{cm}^2$ 组MMP-13与其余各辐射组相比 $P<0.05$

表3 各组软骨细胞中II型胶原比较 (Western blot法, $\bar{x}\pm s$)

时间	对照组	$20\text{mW}/\text{cm}^2$	$30\text{mW}/\text{cm}^2$	$40\text{mW}/\text{cm}^2$	$50\text{mW}/\text{cm}^2$
第0天	1.290 ± 0.015	—	—	—	—
第5天	0.649 ± 0.011	0.673 ± 0.017^{①}	0.660 ± 0.013^{①}	0.782 ± 0.014^{①②}	0.744 ± 0.013^{①}
第10天	0.328 ± 0.011	0.423 ± 0.012^{①}	0.433 ± 0.014^{①}	0.690 ± 0.016^{①②}	0.618 ± 0.013^{①}

①与对照组相比 $P<0.05$;② $40\text{mW}/\text{cm}^2$ 组MMP-13与其余各辐射组相比 $P<0.05$

图2 Western blot检测



a,第0天对照组;b,第5天对照组;c,第5天 $20\text{mW}/\text{cm}^2$ 组;d,第5天 $30\text{mW}/\text{cm}^2$ 组;e,第5天 $40\text{mW}/\text{cm}^2$ 组;f,第5天 $50\text{mW}/\text{cm}^2$ 组;g,第10天对照组;h,第10天 $20\text{mW}/\text{cm}^2$ 组;i,第10天 $30\text{mW}/\text{cm}^2$ 组;j,第10天 $40\text{mW}/\text{cm}^2$ 组;k,第10天 $50\text{mW}/\text{cm}^2$ 组

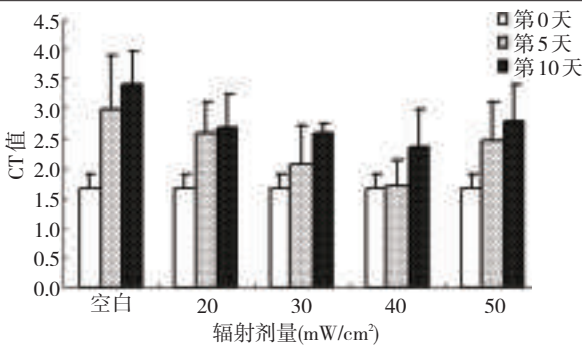
2.3 MMP-13含量与II型胶原含量相关性分析

MMP-13与II型胶原含量相关性研究显示,两者之间存在负相关关系 ($r=-0.757, P<0.05$),见图5。

2.2 LIPUS对MMP-13、II型胶原表达的影响

应用Western blot和qRT-PCR两种检测方法,所得实验数据经统计分析显示实验结果基本一致。在细胞培养5d和10d后, MMP-13表达量较对照组0d升高 ($P<0.05$);与对照组相比,各辐射组MMP-13含量较低,有显著性差异 ($P<0.05$),其中 $40\text{mW}/\text{cm}^2$ 组MMP-13含量最低,与其余各辐射组相比有显著性差异 ($P<0.05$)。细胞培养5d和10d后,II型胶原表达量较对照组0d降低 ($P<0.05$);与对照组相比,各辐射组II型胶原表达量较高,有显著性差异 ($P<0.05$); $40\text{mW}/\text{cm}^2$ 组II型胶原表达量最高,与其余各辐射组相比均有显著性差异 ($P<0.05$)。Western blot检测见图2,具体灰度值见表2、表3;qRT-PCR检测见图3、图4。

图3 各组软骨细胞中MMP-13比较 (qRT-PCR法)

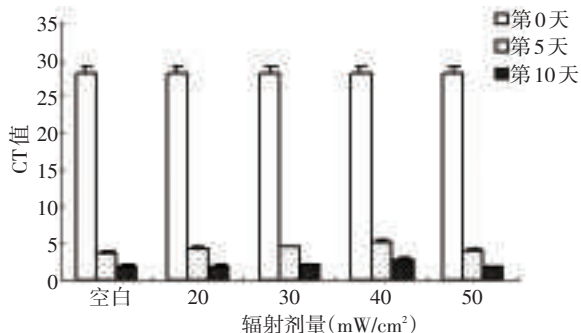


与对照组相比,各辐射组MMP-13含量较少,有显著性差异 ($P<0.05$), $40\text{mW}/\text{cm}^2$ 组MMP-13含量最低,与各辐射组相比均有显著性差异 ($P<0.05$)

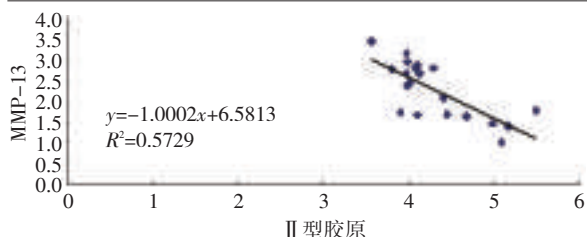
3 讨论

关节软骨损伤所致的OA及关节软骨缺损的修复,主要有赖于软骨细胞的增殖。因此有关软骨细

图4 各组软骨细胞中Ⅱ型胶原比较(qRT-PCR法)



与对照组相比,辐射组Ⅱ型胶原表达量较高($P<0.05$),40mW/cm²组Ⅱ型胶原表达量最高;与各辐射组相比均有显著性差异($P<0.05$)

图5 Ⅱ型胶原及MMP-13含量相关性呈负相关关系($r=-0.757$, $P<0.05$)

胞增殖的研究日渐成熟,包括施加不同的干预措施:如施加生长因子、物理因子等。物理因子治疗副作用较少,容易被患者所接受。LIPUS是整形外科领域一种新准入的临床物理治疗,用于促进骨的愈合,其增强软骨内成骨的作用,可能是通过诱导软骨细胞增殖达到的。研究还发现LIPUS可促进损伤的软骨和自体移植软骨^[9]的界面形态学和组织学特征形成,并增加软骨细胞的增殖^[10]、Ⅱ型胶原蛋白的表达和合成^[11-12],正向调节蛋白多糖的含量,促进软骨形成^[13]。有研究中应用2mW/cm²和30mW/cm²的LIPUS辐射体外培养软骨细胞,每天20min,发现软骨细胞的生存能力不受超声影响^[14];在超声刺激后第7天,30mW/cm²实验组聚合素基因表达和合成与对照组相同,而2mW/cm²实验组则增加。Toru等^[6]研究发现强度为7.5mW/cm²和15mW/cm²的LIPUS可以促进三维结构材料中体外软骨细胞的增殖。本研究采用4种不同强度的LIPUS辐射体外培养软骨细胞,结果证实了LIPUS可促进体外培养软骨细胞的增殖,同时,研究还发现虽然LIPUS在20mW/cm²、30mW/cm²、40mW/cm²、50mW/cm²等4种强度下均可刺激体外软骨细胞的增殖,但其中40mW/cm²辐射组

的增殖速度明显高于其他辐射组,提示LIPUS促进软骨细胞增殖的作用具有一定的强度依赖性。

软骨细胞胞质的主要成分由不同的胶原成分、蛋白酶、蛋白多糖组成,其中Ⅱ型胶原含量最多并且是软骨细胞最具特征的指标-金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)为细胞外基质降解最重要的蛋白水解系统^[15],其中MMP-13可由人类软骨细胞产生,几乎能降解所有细胞外基质成分,MMP-13对Ⅱ型胶原蛋白具有很强的降解能力,是软骨细胞中降解胶原蛋白的最重要的一种酶,并且其他MMPs亚型也是通过其起作用;从理论上讲MMP-13的变化可反映软骨基质中Ⅱ型胶原的代谢变化^[16-17]。本研究发现体外培养软骨细胞第5天、第10天后,各LIPUS辐射组及对照组中,Ⅱ型胶原含量均比第0天显著降低,而MMP-13含量比第0天显著增高,说明软骨细胞在体外培养环境中,Ⅱ型胶原降解迅速,MMP-13表达增高;与对照组相比,各LIPUS辐射组软骨细胞中Ⅱ型胶原降解、MMP-13表达增高速度均趋缓,且Ⅱ型胶原与MMP-13表达量之间存在负相关关系,证明LIPUS可通过延缓软骨细胞中Ⅱ型胶原的降解、抑制MMP-13的表达来刺激细胞增殖的,同时提示Ⅱ型胶原降解与MMP13表达密切相关。此外,本实验研究发现经LIPUS照射后第5天和第10天时,Ⅱ型胶原蛋白及Ⅱ型胶原mRNA表达量均较对照组高,同时在相同的时间点经LIPUS辐射组的MMP-13及MMP-13mRNA表达量较对照组低,以40mW/cm²最明显,与LIPUS对软骨细胞增殖实验结果相一致,提示LIPUS的作用与辐射时间、强度相关。

本实验结果进一步证实,LIPUS辐射可促进软骨细胞增殖,这一增殖作用与LIPUS减少了MMP-13的合成,降低了MMP-13对Ⅱ型胶原的降解相关,其相互作用的机制有待进一步研究。此外,用LIPUS治疗膝骨性关节炎在临床尚未开展,本研究的后续部分将进一步探讨LIPUS对兔膝骨性关节炎的治疗与作用机制,为LIPUS广泛应用于临床提供有利的理论依据。

参考文献

- [1] Michael JW, Schluter-Brust KU, Eysel P. The epidemiology, etiology, diagnosis, and treatment of osteoarthritis of the knee[J].

- Dtsch Arztebl Int, 2010,107(9): 152—162.
- [2] Jamtvedt G, Dahm KT, Christie A, et al. Physical therapy interventions for patients with osteoarthritis of the knee: an overview of systematic reviews[J]. Phys Ther, 2008, 88:123—135.
 - [3] Wiltink A, Nijweide, PJ, Oosterbaan WA, et al. Effect of therapeutic ultrasound on endochondral ossification[J]. Ultrasound Med Biol, 1995, 21(1):121—127.
 - [4] Naito K, Watari T, Muta T, et al. Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) increases the articular cartilage type II collagen in a rat osteoarthritis model[J]. J Orthop Res, 2010, 28(3): 361—369.
 - [5] Dijkman BG, Sprague S, Bhandari M. Low-intensity pulsed ultrasound: Nonunions[J]. Indian J Orthop, 2009, 43(2): 141—148.
 - [6] Iwashina T, Mochida J, Miyazaki T, et al. Low-intensity pulsed ultrasound stimulates cell proliferation and proteoglycan production in rabbit intervertebral disc cells cultured in alginate[J]. Biomaterials, 2006, 27(3):354—361.
 - [7] Choi BH, Woo JI, Min BH, et al. Low-intensity ultrasound stimulates the viability and matrix gene expression of human articular chondrocytes in alginate bead culture[J]. J Biomed Mater Res A, 2006, 79(4):858—864.
 - [8] Takeuchi R, Ryo A, Komitsu N, et al. Low-intensity pulsed ultrasound activates the phosphatidylinositol 3 kinase/Akt pathway and stimulates the growth of chondrocytes in three-dimensional cultures: a basic science study[J]. Arthritis Res Ther, 2008, 10(4):R77.
 - [9] Cook SD, Salkeld SL, Patron LP, et al. The effect of low-intensity pulsed ultrasound on autologous osteochondral plugs in a canine model[J]. Am J Sport Med, 2008, 36(9):1733—1741.
 - [10] Naito K, Watari T, Muta T, et al. Low-intensity pulsed ultrasound(LIPUS) increases the articular cartilage type II collagen in a rat osteoarthritis model[J]. J Ortho Res, 2010, 28(3):361—369.
 - [11] Choi BH, Woo JI, Min BH, et al. Low-intensity ultrasound stimulates the viability and matrix gene expression of human articular chondrocytes in alginate bead culture[J]. J Biomed Mater Res A, 2006, 79(4):858—864.
 - [12] Mukai S, Ito H, Nakagawa Y, et al. Transforming growth factor-beta1 mediates the effects of low-intensity pulsed ultrasound in chondrocytes[J]. Ultrasound Med Biol, 2005, 31(12): 1713—1721.
 - [13] Korstjens CM, van der Rijt RH, Albers GH, et al. Low-intensity pulsed ultrasound affects human articular chondrocytes in vitro[J]. Med Biol Eng Comput, 2008, 46(12):1263—1270.
 - [14] Zhang ZJ, Huckle J, Francomano CA, et al. The effects of pulsed low-intensity ultrasound on chondrocyte viability, proliferation, gene expression and matrix production[J]. Ultrasound Med Biol, 2003, 29(11):1645—1651.
 - [15] Blain EJ. Mechanical regulation of matrix metalloproteinases[J]. Front Biosci, 2007, 12:507—527.
 - [16] Bramono DS, Richmond JC, Weitzel PP, et al. Matrix metalloproteinases and their clinical applications in orthopaedics[J]. Clin Orthop Relat Res, 2004, 428:272—285.
 - [17] Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry[J]. Circ Res, 2003, 92(8):827—839.

神经康复新技术学习班招生通知 [项目编号:2011-16-00-040 (国)]

随着科学技术的进步,神经生理学、神经生物学、功能神经影像学、计算机学、生物工程学等学科的发展,极大地推动了康复医学的快速前进,特别是各种新技术的应用给康复医学带来了新的气息。在传统治疗的基础上,各种康复新技术的应用有助于提高康复治疗效果,带来良好的经济效益和社会效益。推广先进的康复治疗技术是康复医学发展的需要。由首都医科大学宣武医院、中国医师协会康复医师分会、北京康复医学会举办的“神经康复新技术学习班”将于2011年6月在北京举行,项目编号:2011-16-00-040(国)。届时将邀请美国约翰·霍普金斯大学康复系Zorowitz教授等国内外知名康复专家介绍最新的康复治疗技术和新进展,具有很高的临床应用价值。授课主要内容:①神经康复学的新进展;②康复治疗技术的新动态;③脑卒中康复治疗的新进展;④经颅磁刺激在康复医学中的应用;⑤可视化虚拟情景康复;⑥失语症心理语言评价;⑦康复机器人的应用;⑧本体感觉的评估和训练;⑨新型步态分析系统介绍。

现将相关事宜通知如下:①培训对象:康复科医师、治疗师、神经科医师、骨科医师以及相关临床、科研及治疗人员;②报到时间:2011年6月7日;③报到及住宿地点另行通知;④培训时间:2011年6月8—12日;⑤收费标准:培训费1200元(包括学费和资料费),住宿费、膳食费、差旅费及往返车船机票自理。培训结束后,将授予国家级继续教育I类学分10分及培训合格证书;⑥届时符合条件人员可以现场办理中国医师协会康复医师分会会员证(会员费100元)。请于2011年4月10日前将报名回执寄到:地址:北京市宣武区长椿街45号宣武医院康复医学科 张艳明 收,邮编:100053。欢迎电话报名和电子邮件报名,咨询电话:010-83198326,手机:13641026802;传真:010-83156838,联系人:张艳明,电子信箱:kfysfh@yahoo.cn。

首都医科大学宣武医院
中国医师协会康复医师分会
北京康复医学会