

Piezo1 蛋白在人退变软骨细胞应力模型中的表达特点

杨骥宁¹, 曹杨¹, 周勇伟¹, 倪硕¹, 傅蔚聪¹, 施铁军¹, 李晓飞^{1,2}

(1. 金华市中心医院骨关节外科, 浙江 金华 321000; 2. 青岛大学附属医院关节外科, 山东 青岛 266000)

【摘要】 目的:探索新型机械敏感性离子通道 Piezo1 蛋白在人退变软骨细胞应力模型中的表达特点。方法:构建人退变软骨细胞体外培养-应力刺激模型,采用多通道细胞牵张应力加载系统 FX-4000T 处理软骨细胞,根据预试验结果加载 0.5 Hz 的加载频率和 20% 的细胞拉伸率。按细胞的处理时间分成 0 h, 2 h, 12 h, 24 h 和 48 h 机械应力组。采用 RT-PCR 技术, Western-blot 检测 Piezo1 蛋白在周期性牵张应力作用下的表达水平。利用激光共聚焦显微镜检测 Piezo1 蛋白荧光的强弱。结果:(1)RT-PCR 结果显示, 2 h 牵张应力组 Piezo1 的基因相对表达量较 0 h 牵张应力组增加 ($F=13.917, q=0.037 1, P<0.05$), 24 h 牵张应力组 Piezo1 基因相对表达量达峰值, 而 48 h 牵张应力组 Piezo1 基因相对表达量较 24 h 牵张应力组降低, 差异有统计学意义 ($F=13.917, q=0.049 5, P<0.05$)。 (2)Western-blot 结果显示, 2 h 牵张应力组 Piezo1 的蛋白表达量较空白对照组 (0 h 牵张应力组) 略有增加 ($F=19.341, q=0.037 1, P<0.05$), 24 h 牵张应力组的 Piezo1 蛋白的表达量最多, 而 48 h 牵张应力组的 Piezo1 蛋白表达量较 24 h 牵张应力组降低 ($F=19.341, q=0.017 7, P<0.05$)。 (3)Piezo1 蛋白表达于髓核细胞的细胞质与细胞核, 并且随着加力时间的增加, 蛋白的荧光强度也有相应的增加。结论:在人类退变软骨细胞中, 新型机械敏感性离子通道 Piezo1 蛋白有微量表达, 加载周期性机械拉伸力后, Piezo1 蛋白的表达量增多, 并且呈现时间依赖性。

【关键词】 Piezo1 蛋白离子通道; 机械牵张应力; 软骨细胞

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2018.06.013

Expression characteristics of Piezo1 protein in stress models of human degenerative chondrocytes YANG Qi-ning, CAO Yang, ZHOU Yong-wei, NI Shuo, FU Wei-cong, SHI Tie-jun, and LI Xiao-fei*. *Department of Joint Surgery, Jinhua Municipal Central Hospital, Jinhua 321000, Zhejiang, China

ABSTRACT Objective: To explore the expression characteristics of new mechanosensitive ion channel Piezo1 protein in stress models of human degenerative chondrocytes. **Methods:** The stress stimulation model of human degenerative chondrocytes in vitro was constructed. Multi-channel cell stretch stress loading system FX-4000T was used to treat chondrocytes. According to the results of pre-test, the loading frequency of 0.5 Hz and the cell elongation of 20% were loaded. According to cell processing time, it was divided into 0 h, 2 h, 12 h, 24 h and 48 h mechanical stress group. The RT-PCR and Western-blot were used to test the expression of the Piezo1, also the Laser scanning confocal microscope (LSCM) was used to test the intensity of the fluorescence of the Piezo1. **Results:** (1)The result of the RT-PCR showed that the expression of the Piezo1 in the 2 h group was higher than the 0 h group ($F=13.917, q=0.037 1, P<0.05$). The expression of the piezo1 in the 24 h group was the highest. While the expression of the piezo1 in the 48 h group was lower than the expression of the piezo1 in the 24 h group ($F=13.917, q=0.049 5, P<0.05$). (2)The result of the Western-blot showed that the 2 h group was higher than the 0 h group ($F=19.341, q=0.037 1, P<0.05$). The expression of the 24 h had the highest expression which was higher than the 48 h group ($F=19.341, q=0.017 7, P<0.05$). (3) The Piezo1 protein was extensively expressed in the cytoplasm and nucleus of the nucleus pulposus cells. And with the increase of stress processing time, the fluorescence intensity of the protein also increased. **Conclusion:** In human degeneration cartilage cells, the new mechanio sensitive ion channel Piezo1 protein has a trace expression. After loading periodic mechanical tensile force, the expression of Piezo1 protein increases with time dependence.

KEYWORDS Piezo1 protein ion channel; Mechanical stretch force; Chondrocytes

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2018, 31(6):550-555 www.zggszz.com

基金项目:国家自然科学基金(编号:81272056)

Fund program: Provided by the National Natural Science Foundation of China (No. 81272056)

通讯作者: 李晓飞 E-mail: lxfbisheng@126.com

Corresponding author: LI Xiao-fei E-mail: lxfbisheng@163.com

创伤性骨性关节炎是临床上最常见的一种创伤性疾病, 定义为直接暴力损伤、间接暴力扭伤等所致的骨关节软骨细胞的过度凋亡^[1]。创伤性骨性关节炎的发生也同时增加社会的经济负担^[2]。探索创伤

性骨性关节炎的发病机制,除了遗传和环境因素外,机械牵张应力在软骨损伤甚至创伤性骨性关节炎的发生和发展中起到了主要作用^[3]。探索创伤性骨性关节炎的发病机制,找到新的治疗靶点成为研究热点,为以后创伤性骨性关节炎的治疗奠定了理论基础。Piezo1 蛋白是由 Coste 等^[4]和 Kim 等^[5]在 2012 年发现的一种新的机械敏感性离子通道,是与生物力学机械信号密切相关的一种离子通路。Piezo1 蛋白离子通路作为最新的机械牵张应力激活的离子通道(stretch-activated ion channel, SAC) 家族的一员,其重要的存在意义在于,可以稳定地表达在真核细胞生物体内,这一点与其他家族成员不同,如双钾离子通道^[5]。近来的研究表明 Piezo1 蛋白离子通道可以被特异性的阳离子阻滞剂 GsMTx4 所阻滞^[6]。本研究前期结果^[7-8]表明 Piezo1 蛋白可以作为骨性关节炎软骨细胞过度凋亡的启动信号。然而没有体外构建软骨细胞的周期性牵张应力细胞模型,以此细胞应力模型为特点,研究周期性机械牵张应力与 Piezo1 蛋白的表达特点是本文的亮点之一。本研究利用 RT-qPCR、Western-blot、激光共聚焦显微镜等技术,对在机械牵张应力作用下,机械敏感性离子通道 Piezo1 蛋白在人类骨性关节炎软骨细胞的表达及其与牵张应力的关系进行了探讨研究,为临床治疗创伤性骨性关节炎寻求新的治疗靶点提供新的治疗思路。

1 材料与方法

1.1 材料

软骨捐助者为 8 例创伤性骨性关节炎患者,平均年龄(42.0±8.6)岁,其中男 6 例,女 2 例,全部来自青岛大学附属医院。所有的捐赠者经过严格筛选,否认家族性遗传病、传染病及血液疾病,研究方案经青岛大学医学院的附属医院伦理委员会批准。所有患者签署了知情同意书。

1.2 软骨细胞的培养与鉴定

1.2.1 软骨细胞的培养 经青岛大学附属医院伦理委员会批准和患者知情同意,所有的软骨组织取自 2015 年 2 月至 2016 年 2 月创伤性骨性关节炎患者的骨性关节炎软骨,于膝关节置换术中取得。在无菌条件下取出软骨后用含 400 U/ml 的青霉素和 0.4 mg/ml 链霉素的 PBS 液冲洗 3 遍后,切碎至 1 mm³,而后加入 0.25%胰蛋白酶于 37℃水浴 0.5 h,加入 0.2% II 型胶原酶 37℃水浴 4 h。离心收集细胞加入适量含 10%胎牛血清 DMEM 培养基,计数后将细胞转移至 37℃,5%CO₂ 培养箱中培养。

1.2.2 锥虫蓝染色计数细胞成活率 取 0.4%锥虫蓝染液加入到细胞悬液中,比例为 9:1。静置 5 min

后在显微镜下观察计算活细胞率(%)=[活细胞数/(活细胞数+死细胞数)×100%]。

1.2.3 软骨细胞的鉴定 取原代软骨细胞接种于预先铺有玻璃爬片的 24 孔板中,待细胞爬满后用 4%多聚甲醛(Hyclone, Logan, UT, USA)固定 15 min。再加入 0.2% Triton X-100, 5 min 后用 PBS 冲洗 3 次。加入 II 型胶原一抗(Novus Biologicals, Littleton, CO, USA)和聚集蛋白聚糖一抗(Novus Biologicals, Littleton, CO, USA)孵育过夜,加入 AlexaFour 488 羊抗兔 IgG 二抗(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)孵育 30 min。而后用 DAB 染液进行染色处理,在倒置光学显微镜(Olympus GX51, Olympus Corp., Tokyo, Japan)下观察。

1.3 分组方法

将原代软骨细胞用胰蛋白酶消化,以每孔 3×10⁶ 个细胞密度接种到膜性 6 孔培养板(Flexcell, USA)中,加入 2.5 ml 含 12%胎牛血清(Gibco, USA)的低糖 DMEM。待细胞生长达 80%的融合率时,去掉培养基,加入无血糖的低糖 DMEM。24 h 后将细胞放入 37℃培养箱内的多通道细胞牵张应力加载系统 FX-4000T(FlexCell, 美国)中。根据预试验结果对细胞分别加载 0 h、2 h、12 h、24 h、48 h 的周期性牵张应力(幅度 20%,周期为每分钟 6 个循环),分别为 0 h、2 h、12 h、24 h、48 h 组。以同样时间段的不加力组为对照组,并设置 GsMTx4 组作为抑制剂对照组。

1.4 检测指标与方法

1.4.1 实时荧光定量 PCR 检测 分别将各多通道牵张应力 0 h、2 h、12 h、24 h、48 h 组的细胞收集后离心,细胞离心后,加入 1 ml 的 RNAiso 试剂(TaKaRa, Japan)裂解细胞,提取细胞总 RNA,纯度在 1.9~2.0。然后按照逆转录试剂盒说明书将 RNA 逆转录为 cDNA,在 4℃下保存。应用 SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒(Perfect Real-Time, TaKaRa, Japan)进行实时荧光定量 PCR 检测。反应条件为预变性:95℃ 30 s, 1 个循环。PCR:95℃ 5 s, 60℃ 30 s, 40 个循环。溶解曲线:95℃ 5 s, 60℃ 1 min。降温:50℃ 30 s, 1 个循环。然后应用 FTC-2000 RT-PCR 系统分析 Piezo1 的基因相对表达量。内参基因 GAPDH, Piezo1 均由上海生工公司生产(表 1)。采用 2^{-ΔΔCt} 的方法计算目的基因的相对表达量。

1.4.2 Western-blot 检测 取多通道牵张应力加载系统处理后的各组细胞,用 PBS 冲洗 3 遍,用细胞刮子使细胞脱壁, PBS 重悬洗涤离心,收获细胞。细胞沉淀加入 RIPA 裂解液和 PMSF 蛋白酶抑制剂混合液(100:1)于冰上裂解 1 h,超声裂解,12 000 r/min, 4℃离心 10 min,取上清液加入上样缓冲液 95℃水

表 1 目的基因的引物序列
Tab.1 Primer sequence of target gene

引物名称	引物序列	基因
Piezo1	正义链	5'-CATCTTGGTGCTCTCCTCTGTCT-3'
	反义链	5'-CTGGCATCCACATCCCTCTCATC-3'
hGAPDH	正义链	5'-GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3'
	反义链	5'-TGGTGAAGACGCCACTGGA-3'

浴 10 min, -80 °C 保存。BCA 比色法测定蛋白浓度, 定量上样进行 8% 的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳 2.0 h。转膜后加一抗稀释液(抗体为 1:1 000; Santa Cruz Biotechnology, 美国) 4 °C 孵育过夜, 24 h 后用 PBS 洗膜 10 min×3 次。后加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:2 000, 碧云天, 中国) 37 °C 孵育 1 h, 洗膜, 化学发光试剂显色 1 min 左右, 置于暗盒内, X 射线显影、定影后曝光。以 β -actin 作为内参照, 应用 Quantity One 4.6 软件测量各条带的吸光度值。

1.4.3 免疫荧光 收集培养瓶细胞后离心, 加入含 10% DMEM 培养基制成细胞悬液, 1×10^4 /孔密度接种到 24 孔板内, 37 °C, 5% CO₂ 培养 24 h, 加入 4% 甲醛室温固定 10 min。加入 0.2% TritonX-100 (Santa Ana, CA, USA), 室温孵育 10 min, 加入 5% BSA 封闭液室温孵育 1 h。然后加入一抗 Piezo1 (Novus Biologicals, Littleton, CO, USA, 1:5 000) 4 °C 过夜孵育, 而后加入羊抗兔二抗 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA,

1:2 000)。激光共聚焦显微镜观察, Cy3 激发/发射滤片 (Ex/Em=545/570 nm)。

1.5 统计学处理

应用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析, 定量数据以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各牵张组定量数据比较采用重复测量的方差分析, 其中数据的两两比较采用 *q* 检验。而抑制剂 GsMTx4 组和相应的牵张应力组的比较采用配对 *t* 检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 软骨细胞 II 型胶原和多聚蛋白聚糖的表达鉴定

本试验利用免疫组化的方法, 观察细胞内有 II 型胶原和多聚蛋白聚糖的表达(图 1)。

2.2 免疫荧光检测 Piezo1 蛋白的定位表达

激光共聚焦显微镜下观察 Piezo1 在软骨细胞的表达定位, 可见 Piezo1 蛋白广泛存在于软骨细胞的细胞质和细胞核, 并且随着加力时间的增加, 蛋白的荧光强度也有相应的增加(图 2)。可见 2 h 牵张应力组的荧光强度比 0 h 牵张应力组略有增强, 24 h 牵张应力组的荧光强度比其他组的都强。

2.3 荧光定量 PCR 检测各牵张应力组和抑制剂组 Piezo1 的基因相对表达量

RT-PCR 结果显示(表 2), 2 h 牵张应力组的 Piezo1 基因相对表达量比 0 h 牵张应力组有所增加, 12 h 牵张应力组 Piezo1 基因相对表达量比 2 h 牵张应力组明显增加, 24 h 牵张应力组 Piezo1 基因相对

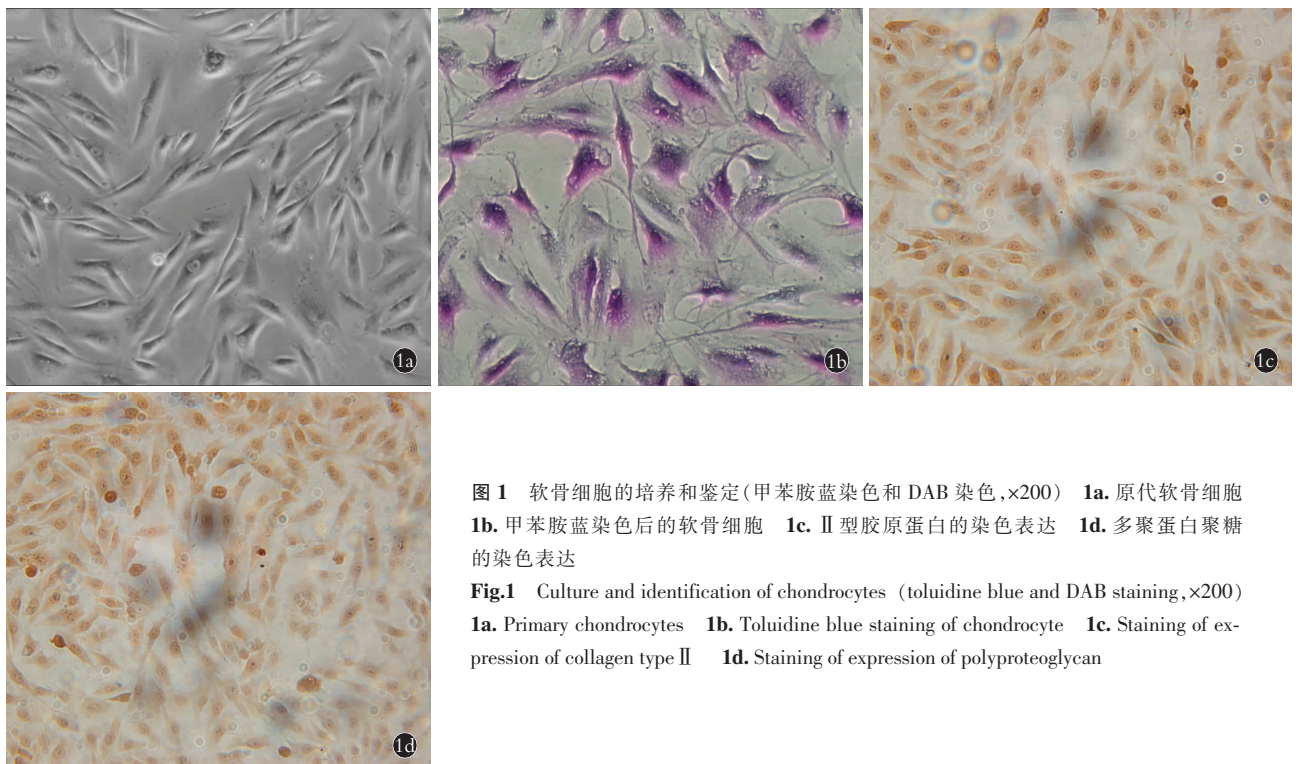


图 1 软骨细胞的培养和鉴定(甲苯胺蓝染色和 DAB 染色, ×200) 1a. 原代软骨细胞 1b. 甲苯胺蓝染色后的软骨细胞 1c. II 型胶原蛋白的染色表达 1d. 多聚蛋白聚糖的染色表达

Fig.1 Culture and identification of chondrocytes (toluidine blue and DAB staining, ×200) 1a. Primary chondrocytes 1b. Toluidine blue staining of chondrocyte 1c. Staining of expression of collagen type II 1d. Staining of expression of polyproteoglycan

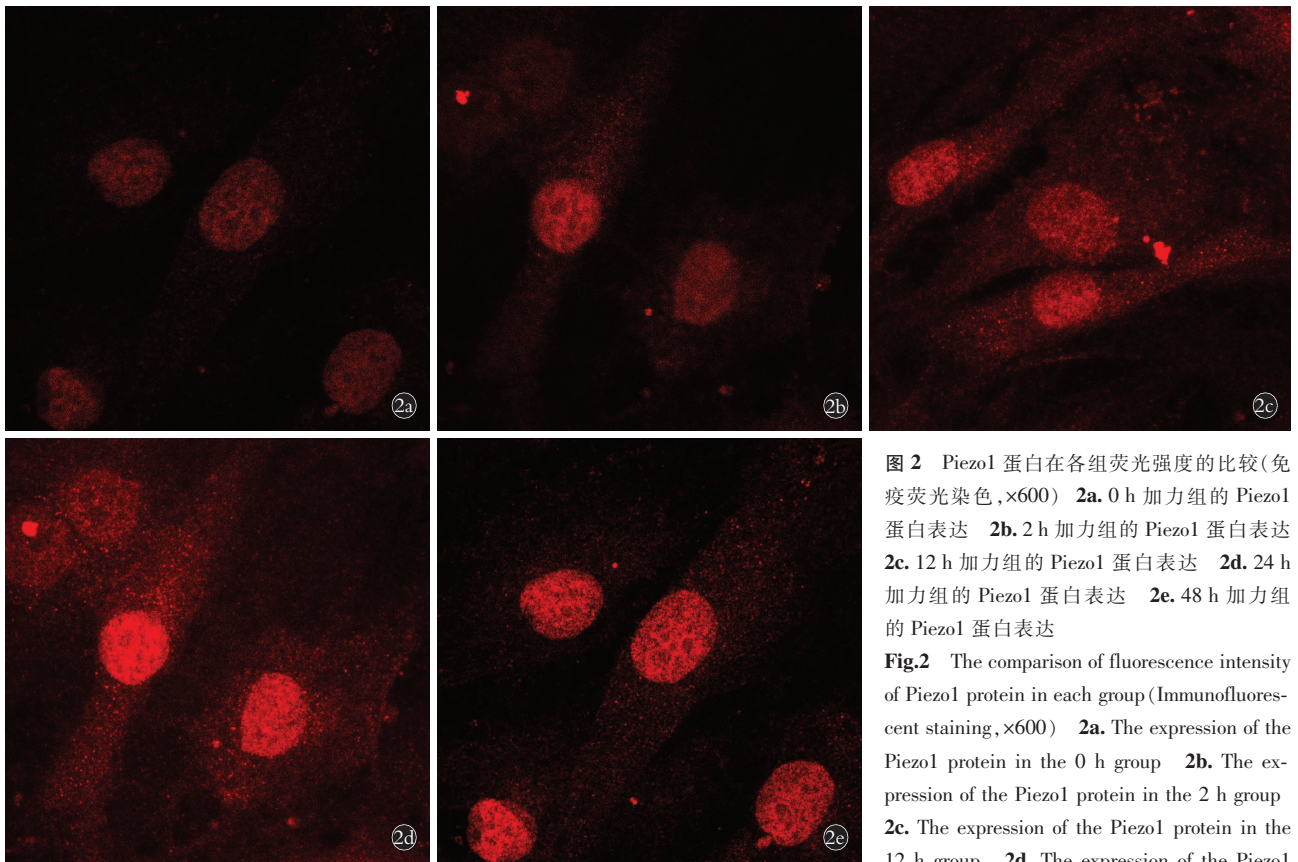


图 2 Piezo1 蛋白在各组荧光强度的比较(免疫荧光染色, ×600) 2a. 0 h 加力组的 Piezo1 蛋白表达 2b. 2 h 加力组的 Piezo1 蛋白表达 2c. 12 h 加力组的 Piezo1 蛋白表达 2d. 24 h 加力组的 Piezo1 蛋白表达 2e. 48 h 加力组的 Piezo1 蛋白表达

Fig. 2 The comparison of fluorescence intensity of Piezo1 protein in each group (Immunofluorescent staining, ×600) 2a. The expression of the Piezo1 protein in the 0 h group 2b. The expression of the Piezo1 protein in the 2 h group 2c. The expression of the Piezo1 protein in the 12 h group 2d. The expression of the Piezo1

protein in the 24 h group 2e. The expression of the Piezo1 protein in the 48 h group

表 2 荧光定量 PCR 检测各组软骨细胞 Piezo1 的基因相对表达量比较 ($2^{-\Delta\Delta C_t}, \bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of relative gene expression of Piezo1 in chondrocytes among different groups at different times by RT-PCR ($2^{-\Delta\Delta C_t}, \bar{x} \pm s$)

组别	0 h	2 h	12 h	24 h	48 h
牵张应力组	1.326±0.017*	2.261±0.039	5.234±0.031**	22.385±0.178	10.163±0.325***
GsMTx4 组	1.213±0.027	1.678±0.059	2.471±0.072	10.273±0.092	4.907±0.017
t 值	0.042	7.932	8.743	9.117	7.882
P 值	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:不同时间两组 Piezo1 的基因相对表达量比较, $F=13.917, P<0.05$ 。与 2 h 组比较, $*q=0.0371, P<0.05$; $**q=0.0195, P<0.05$ 。与 24 h 组比较, $***q=0.0495, P<0.05$

Note: Comparison of gene expression of Piezo1 in chondrocytes between two groups at different times, $F=13.917, P<0.05$. Compared with 2 h group, $q=0.0371, P<0.05$; $**q=0.0195, P<0.05$. Compared with 24 h group, $***q=0.0495, P<0.05$

表达量达峰值, 48 h 牵张应力组 Piezo1 基因相对表达量相比 24 h 牵张应力组有所降低。抑制剂 GsMTx4 组的 Piezo1 基因相对表达量相较于对应的 2 h、12 h、24 h、48 h 牵张应力组 Piezo1 基因的相对表达量降低。而 0 h 牵张应力组(空白对照组)与其相应的抑制剂 GsMTx4 组的比较差异无统计学意义。

2.4 Western-blot 检测在机械应力作用下 Piezo1 蛋白在各组软骨细胞的表达

结果显示(表 3), 2 h 牵张应力组的 Piezo1 蛋白表达量比 0 h 牵张应力组有所增加, 12 h 牵张应力

组 Piezo1 蛋白表达量比 2 h 牵张应力组明显增加, 24 h 牵张应力组 Piezo1 蛋白的表达量达峰值, 48 h 牵张应力组 Piezo1 蛋白表达量相比 24 h 牵张应力组有所降低。抑制剂 GsMTx4 组的 Piezo1 蛋白表达量相较于对应的 2 h、12 h、24 h、48 h 牵张应力组的 Piezo1 蛋白表达量降低, 而 0 h 牵张应力组(空白对照组)与其相应的抑制剂 GsMTx4 组的比较差异无统计学意义(图 3)。

3 讨论

有研究已经表明真核生物细胞可以表达 Piezo1

表 3 Western-blot 检测各组软骨细胞 Piezo1 蛋白表达量比较($\bar{x}\pm s$, 灰度值)

Tab.3 Comparison of Piezo1 protein expression in chondrocytes among different groups at different times by Western-blot($\bar{x}\pm s$, Gray value)

组别	0 h	2 h	12 h	24 h	48 h
牵张应力组	0.134±0.017*	0.209±0.011	0.412±0.067**	0.911±0.009	0.277±0.034***
GsMTx4 组	0.112±0.017	0.183±0.049	0.214±0.043	0.428±0.010	0.101±0.015
t 值	0.197	6.978	7.884	9.437	7.119
P 值	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:不同时间两组 Piezo1 的蛋白表达量比较, $F=19.341, P<0.05$ 。与 2 h 组比较, $*q=0.0371, P<0.05$; $**q=0.0195, P<0.05$ 。与 24 h 组比较, $***q=0.0177, P<0.05$

Note: Comparison of Piezo1 protein expression in chondrocytes between two groups at different times, $F=19.341, P<0.05$. Compared with 2 h group, $*q=0.0371, P<0.05$; $**q=0.0195, P<0.05$. Compared with 24 h group, $***q=0.0177, P<0.05$

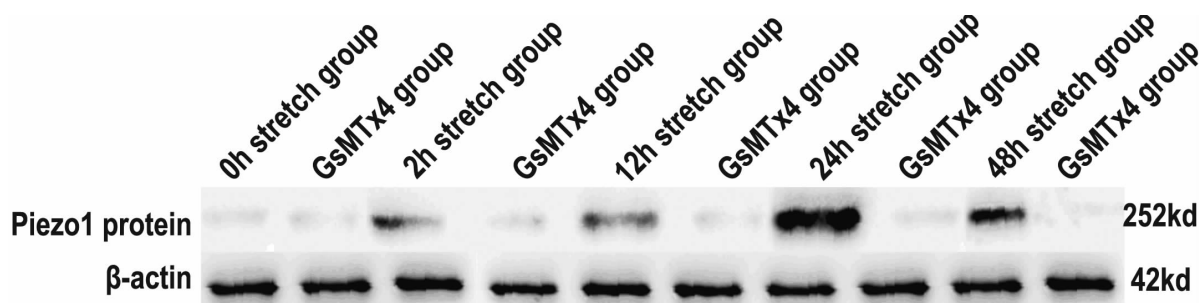


图 3 各加力组与抑制剂组的 Western-blot 结果

Fig.3 The western-blot results of different mechanical stretch group and the GsMTx4 group

蛋白^[9]。但至今还没有 Piezo1 蛋白是否在人类软骨细胞中表达的报道以及其作用机制的研究结果。本研究着眼于在骨性关节炎患者在异常应力介导的软骨细胞过度凋亡中 Piezo1 蛋白的表达及与体外模拟机械牵张应力的关系。从异常应力所致软骨细胞过度凋亡的角度为骨性关节炎患者软骨细胞的修复治疗提供新的思路与靶点。

关节软骨在正常生理应力作用下, 软骨细胞可以在关节液和软骨基质中获得营养, 维持正常的结构和功能^[10-12]。Hou 等^[13]的研究结果表明适宜的周期性应力刺激同样可以促进软骨细胞的增殖。但是, 高能量的直接或间接暴力则会促进软骨细胞的过度凋亡甚至直接死亡^[14]。可见机械应力是维持骨骼系统的最重要的生理因素之一^[15]。然而具体的研究机制尚未清楚。本研究结果发现, 机械牵张激活离子通道 Piezo1 蛋白离子通道的存在可以很好地弥补这方面的空白。另外, 本研究发现, Piezo1 蛋白是可以在软骨细胞中稳定表达的, 并且与机械应力存在时间依赖关系。

De Croos 等^[16]研究了周期性牵张应力作用下软骨分解代谢的变化, 发现在力学作用下, MMP3/MMP13 均会有较高的表达, 然而具体的机制未知。本研究结果提供了一个新的机械敏感性离子

通道 Piezo1 蛋白作为突破点, 从信号通路离子通道的角度解释此现象, 从而为获得更多有意义的研究成果奠定基础。

本研究的优点: 提出了新型机械敏感性离子通道 Piezo1 蛋白的存在; 证明了其存在的意义是与机械信号密切相关的, 可作为机械信号的感受器而存在于软骨细胞。不足: 只是证明了 Piezo1 蛋白离子通道的存在, 且发现了 24 h 牵张应力组的表达量最多, 但是其具体的作用机制还有待进一步研究。

参考文献

- [1] Lee W, Leddy HA, Chen Y, et al. Synergy between Piezo1 and Piezo2 channels confers high-strain mechanosensitivity to articular cartilage [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(47):E5114-5122.
- [2] Guilak F. Biomechanical factors in osteoarthritis [J]. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2011, 25(6):815-823.
- [3] Coste B, Mathur J, Schmidt M, et al. Piezo1 and Piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels [J]. Science, 2010, 330(6000):55-60.
- [4] Coste B, Xiao B, Santos JS, et al. Piezo proteins are pore-forming subunits of mechanically activated channels [J]. Nature, 2012, 483(7388):176-181.
- [5] Kim SE, Coste B, Chadha A, et al. The role of Drosophila Piezo in mechanical nociception [J]. Nature, 2012, 483(7388):209-212.
- [6] Zarychanski R, Schulz VP, Houston BL, et al. Mutations in the mechanotransduction protein PIEZO1 are associated with hereditary xerocytosis [J]. Blood, 2012, 120(9):1908-1915.

- [7] 李晓飞,张钊,李晓东,等. 新型机械激活离子通道 Piezo1 蛋白通过 MAPK/ERK1/2 信号通路介导软骨细胞凋亡的机制研究[J]. 中华医学杂志, 2016, 96(31):2472-2478.
LI XF, ZHANG Z, LI XD, et al. The study of the mechanism of the Piezo1 protein-induced apoptosis of the chondrocytes through the MAPK/ERK1/2 signal pathway[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2016, 96(31):2472-2478. Chinese.
- [8] 李晓飞,张钊,王天宝,等. Piezo1 蛋白经 MAPK/ERK5 信号通路介导软骨细胞凋亡的机制研究[J]. 中华骨科杂志, 2016, 36(12):795-803.
LI XF, ZHANG Z, WANG TB, et al. The study of the mechanism of the Piezo1 protein-induced apoptosis of the osteoarthritis chondrocytes through the MAPK/ERK5 signal pathway[J]. Zhonghua Gu Ke Za Zhi, 2016, 36(12):795-803. Chinese.
- [9] Carver W, Goldsmith EC. Regulation of tissue fibrosis by the biomechanical environment[J]. Biomed Res Int, 2013, 49(1):2-7.
- [10] Moo EK, Amrein M, Epstein M, et al. The properties of chondrocyte membrane reservoirs and their role in impact-induced cell death[J]. Biophys J, 2013, 105(7):1590-1600.
- [11] Nagel TM, Hadi MF, Claeson AA, et al. Combining displacement field and grip force information to determine mechanical properties of planar tissue with complicated geometry[J]. J Biomech Eng, 2014, 136(11):114501-114505.
- [12] Chen C, Xie J, Deng L, et al. Substrate stiffness together with soluble factors affects chondrocyte mechanoresponses[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2014, 6(18):16106-16116.
- [13] Hou Y, Chen C, Zhou S, et al. Fabrication of an integrated cartilage/bone joint prosthesis and its potential application in joint replacement[J]. J Mech Behav Biomed Mater, 2016, 59:265-271.
- [14] Ko FC, Dragomir CL, Plumb DA, et al. Progressive cell-mediated changes in articular cartilage and bone in mice are initiated by a single session of controlled cyclic compressive loading[J]. J Orthop Res, 2016, 34(11):1941-1949.
- [15] Natenstedt J, Kok AC, Dankelman J, et al. What quantitative mechanical loading stimulates in vitro cultivation best[J]. J Exp Orthop, 2015, 2(1):15.
- [16] De Croos JN, Dhaliwal SS, Grynaps MD, et al. Cyclic compressive mechanical stimulation induces sequential catabolic and anabolic gene changes in chondrocytes resulting in increased extracellular matrix accumulation[J]. Matrix Biol, 2006, 25(6):323-331.

(收稿日期:2017-06-26 本文编辑:连智华)

《中国骨伤》杂志编辑委员会名单

名誉主编:(按首字汉语拼音字母顺序为序)

陈可冀(中国科学院院士) 沈自尹(中国科学院院士) 吴咸中(中国工程院院士)
钟世镇(中国工程院院士) 王正国(中国工程院院士) 卢世璧(中国工程院院士)
戴尅戎(中国工程院院士) 邱贵兴(中国工程院院士)

顾问:(按首字汉语拼音字母顺序为序)

白人骁 陈渭良 冯天有 顾云伍 胡兴山 蒋位庄 金鸿宾 孔繁锦 黎君若
李同生 梁克玉 刘柏龄 沈冯君 施 杞 时光达 石印玉 孙材江 赵 易
朱惠芳 朱云龙 诸方受

主 编:董福慧

副 主 编:(按首字汉语拼音字母顺序为序)

敖英芳 付小兵 李为农(常务) 马信龙 吕厚山 邱 勇 孙树椿 王 岩
王满宜 卫小春 袁 文 朱立国

编委委员:(按首字汉语拼音字母顺序为序)

敖英芳 毕大卫 陈仲强 董 健 董福慧 董清平 杜 宁 樊粤光 范顺武
付小兵 高伟阳 郭万首 郭 卫 何 伟 贺西京 胡良平 雷仲民 蒋 青
蒋协远 李盛华 李为农 李无阴 刘兴炎 刘亚波 刘玉杰 刘 智 刘忠军
刘仲前 罗从凤 吕厚山 吕 智 马信龙 马远征 马真胜 邱 勇 阮狄克
沈 霖 孙常太 孙树椿 孙铁铮 孙天胜 谭明生 谭远超 童培建 王 岩
王爱民 王 宸 王和鸣 王军强 王坤正 王满宜 王序全 王拥军 韦贵康
吴泰相 伍 骥 卫小春 肖鲁伟 徐荣明 徐向阳 许硕贵 杨自权 姚共和
姚树源 俞光荣 余庆阳 袁 文 詹红生 张 俐 张保中 张春才 张功林
张建政 张英泽 赵 平 赵建宁 赵文海 郑忠东 周 卫 周 跃 朱立国
朱振安 邹 季