

文章编号:1004-7220(2011)02-0121-07

周期性机械拉伸对类风湿关节炎和骨关节炎成纤维样滑膜细胞 BMP-2 表达的影响

周薇^{a,b}, 吕永钢^{a,b*}, Gurinder K Singh^{a,b}, 颜艳^{a,b}, 刘万钱^{a,b}, 杨宁宁^{a,b}, 张非飞^{a,b}, 杨力^{a,b}
(重庆大学 a. “生物流变科学与技术”教育部重点实验室,生物工程学院; b. 生物工程学院国家“111 计划”基地,重庆 400044)

摘要: 目的 研究周期性拉伸对类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 和骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 成纤维样滑膜细胞 (fibroblast-like synoviocytes, FLS) 中骨形态发生蛋白-2 (bone morphogenetic protein-2, BMP-2) 表达的影响, 探讨力学刺激在不同病理过程中对滑膜组织的作用。方法 在正常条件和炎症条件下使用 Flex cell 4000 周期性力学加载系统, 分别对正常、RA、OA 来源的人膝关节 FLS 施加连续 2 h 和 6 h 的 6%、0.5 Hz 的拉应力, 比较测定 BMP-2 mRNA 表达的差异性。结果 2 h 的机械拉伸对 3 种 FLS 中 BMP-2 mRNA 的水平均无显著性影响, 6 h 的机械拉伸能够显著升高 RA FLS 中 BMP-2 mRNA 的水平。炎症因子 (IL-1 β) 作用 2 h 对正常 FLS 无显著影响, 作用 6 h 使其中 BMP-2 mRNA 的水平显著升高; IL-1 β 作用 2 h 和 6 h 均使 RA FLS 中 BMP-2 mRNA 的水平显著升高, 但只有作用 2 h 才使 OA FLS 中 BMP-2 mRNA 的水平显著升高, 作用 6 h 对 OA FLS 中 BMP-2 mRNA 的水平无显著影响; 炎症因子和力学刺激共同作用 2 h 使正常和 RA FLS 中 BMP-2 mRNA 的水平显著升高, 作用 6 h 使正常、RA、OA FLS 中 BMP-2 mRNA 水平均显著升高。结论 正常、RA、OA FLS 中 BMP-2 mRNA 对于力学刺激和炎症因子的响应不同, 结果提示在 RA 和 OA 发病机制中, 炎症因子的影响可能比力学刺激更强; 力学刺激和 IL-1 β 共同作用 6 h 后对 OA FLS 中 BMP-2 mRNA 产生协同效应, 提示两者联合作用对 OA 病情发展具有一定作用。

关键词: 周期性拉伸; 力学刺激; 拉应力; 类风湿性关节炎; 骨关节炎; 成纤维样滑膜细胞; 骨形态发生蛋白-2; 炎症因子; 病理学

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

Effects of cyclic mechanical stretch on BMP-2 expression in RA and OA fibroblast-like synoviocytes

ZHOU Wei^{a,b}, LÜ Yong-gang^{a,b*}, Gurinder K Singh^{a,b}, YAN Yan^{a,b}, LIU Wan-qian^{a,b}, YANG Ning-ning^{a,b}, ZHANG Fei-fei^{a,b}, YANG Li^{a,b} (a. Key Laboratory of Biorheological Science and Technology, Ministry of Education; b. “111” Project Laboratory of Biomechanics and Tissue Repair, Bioengineering College, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract: Objective To explore the role of mechanical stimulation in synovium under different pathological conditions through studying the effects of cyclic mechanical stretch on the expression of bone morphogenetic protein-2 (BMP-2) in rheumatoid arthritis (RA) and osteoarthritis (OA) fibroblast-like synoviocytes (FLS). **Method** 6% and 0.5 Hz stretch generated by Flex cell 4000 tension systems was applied on normal, RA and OA FLS of human knee joint source under normal and inflammatory conditions for 2 h or 6 h, respectively. **Results** Cyclic mechanical stretch of 6%, 0.5 Hz had no significant effects on the expression of BMP-2 in normal, RA and OA FLS at 2 h, while in RA FLS it increased significantly at 6 h. Inflammatory cytokines (IL-1 β) didn't influence nor-

收稿日期:2011-02-27; 修回日期:2011-03-12

基金项目:国家自然科学基金资助项目 (11032012, 30870608), 重庆市科委科技攻关重大项目资助 (2009AA5045), 重庆市自然科学基金 (2009BB5043), 重庆大学大型仪器设备开放基金。

通讯作者:杨力, 教授, 博士研究生导师, E-mail: yangli@cqu.edu.cn。

* 共同第一作者

mal FLS at 2 h, but made BMP-2 mRNA significantly increased at 6 h. IL-1 β increased BMP-2 mRNA of RA FLS significantly both at 2 h and 6 h. IL-1 β increased BMP-2 mRNA of OA FLS significantly only at 2 h, but had no significant effect at 6 h. The co-effect of IL-1 β and cyclic mechanical stretch induced the ascension of BMP-2 expression significantly in normal and RA FLS at 2 h, and in normal, RA and OA FLS at 6 h. **Conclusions** Response of BMP-2 mRNA to mechanic stimulation and IL-1 β in normal, RA and OA FLS were different. Inflammation may play a more important role than mechanical stimulation in the pathogenesis of RA and OA. Synergetic effect in inflammation and mechanical stimulation were found in OA FLS at 6 h, which reveals that they may co-act in the occurrence and development of OA.

Key words: Cyclic stretch; Mechanical stimulation; Tensile stress; Rheumatoid arthritis (RA); Osteoarthritis (OA); Fibroblast-like synoviocytes (FLS); Bone morphogenetic protein-2 (BMP-2); Inflammatory cytokines; Pathology

类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 与骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 患者普遍受累于滑膜炎症。炎症因子和力学刺激是调节滑膜炎症, 影响病情发展的两个重要因素。一方面, B 细胞和巨噬细胞分泌白介素 (IL-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 等炎症因子, 促使前列腺素 (PGE2)、细胞间黏附分子 (ICAM-1)、基质金属蛋白酶 (MMPs) 等细胞因子释放, 引起滑膜增厚、充血、水肿及淋巴细胞和巨噬细胞浸润。另一方面, 生理条件下的力学刺激促使滑膜增生, 细胞活化、增殖并加重炎症。与正常人相比, RA、OA 患者的滑膜成纤维样滑膜细胞 (fibroblast like synoviocytes, FLS) 增殖速率明显偏高, 部分炎症因子及生长因子水平差异较大, 如 TNF- α 、Interleukin、MMPs、ICAM-1 等^[1-2]。滑膜组织是关节腔微环境的主要调控者, 会向关节腔中释放大量的类风湿因子 (rheumatoid factors, RFs), 这些因子在某些情况下能够加重或者减弱炎症反应, FLS 被认为是引起关节损伤和组织重构的主要细胞^[3]。此外, 作为人体主要的受力组织之一, 关节腔内的力学环境时刻影响着细胞的增殖、分化和死亡。滑膜组织受到不同形式的拉伸、剪切等应力作用, 力学信号转化为生物化学信号, 成为影响关节肿胀、僵硬的重要因素^[4]。

骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic proteins, BMPs) 是属于转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 家族的一类多功能糖蛋白。BMPs 是唯一能够诱导异位成骨的细胞因子, 并在调节多种细胞的生长、分化和凋亡过程中起关键作用。BMP-2 是 BMP 家族的重要成员之一, 受到许多细胞因子和某些激素的作用。近年来的研究表明,

BMP-2 在 RA 及血清阴性脊柱关节病的滑膜组织中大量表达, 可能与关节滑膜的异常增生有重要的联系^[5-9]。然而, 迄今为止还不清楚力学刺激对 RA 和 OA 成纤维样滑膜细胞中 BMP-2 表达的影响。本文在正常条件和炎症因子条件下利用 Flex cell 4000 周期性力学加载系统分别对正常、RA、OA 来源的膝关节 FLS 进行 2 h 和 6 h 连续施加 6%、0.5 Hz 的拉应力, 比较测定 BMP-2 mRNA 表达的差异性, 试图揭示力学刺激在不同病理过程中对滑膜组织的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞分离和培养

滑膜组织来源于重庆医科大学附属第一医院的膝关节健康者手术后的捐赠及 45 ~ 73 岁的 RA 和 OA 患者, 经膝关节镜清创手术获取病变滑膜组织。RA 及 OA 患者病症符合美国风湿病协会 1987 年修订的类风湿性关节炎诊断标准^[10] 和 1986 年制定的膝骨关节炎标准^[11]。利用实验室前期报道的相同方法获得滑膜组织^[12], 即滑膜组织于分离后 24 h 之内带入超净工作台。在无菌条件下, 仔细剔除滑膜附属的血管、脂肪和其他软组织, 以 PBS 冲洗干净。将洗净的滑膜剪切成体积约为 1 mm \times 2 mm \times 2 mm 左右的组织小块, 移入 15 mL 离心管中以 PBS 洗涤数次, 加入含 10% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS)、0.1 mmol/L 非必需氨基酸、4 mmol/L L-谷氨酸、100 U/mL 青霉素、100 U/mL 链霉素的 DMEM 培养液, 将滑膜组织块以间距 5 mm 左右放入 25 cm² 培养瓶中, 静置于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 的孵箱中。培养 12 h, 待组织块贴壁后, 吸出旧液并向其中加入 3 mL 完全培养液, 将组织块浸覆, 在培养箱中继续

培养,每3 d更换培养液。待细胞从组织块中长出并长满培养瓶底部后,将组织块转移到其他培养瓶中,剩余细胞继续生长。当原代培养的细胞长满瓶底成片时(约90%融合),以胰酶消化进行传代培养。实验显示,RA FLS的增殖速率明显高于正常及OA FLS。取3~6代稳定的传代细胞用于实验,多余细胞可用DSMO冻存,置于液氮中备用。

1.2 周期性力学加载

加载装置采用美国Flexer cell公司生产的FX-4000柔性基底拉伸系统以模拟FLS的力学环境。拉伸系统由加载盘、Flex连接装置、FX-4000拉伸软件等部分构成,加载过程由计算机自动控制。该系统通过真空泵产生的负压抽吸特制的柔性培养膜,使黏附生长在培养膜上的细胞受到张力作用,选择适当的拉伸幅度使之与生理或病理条件下关节腔内的力学环境相。本实验通过添加5 μg/L的IL-1β模拟关节腔内的炎症环境。以上两者结合能够较好地模拟RA和OA患者滑膜组织所受的外界综合影响。本实验选择6%的拉伸幅度、0.5 Hz的拉伸频率进行加载,使之与生理条件下滑膜所处的力学环境相吻合。加载实验在37℃、5%CO₂的细胞培养箱内进行。

将生长于25 cm²培养瓶中的细胞用0.25%胰蛋白酶消化,以3 × 10⁵个/mL的密度接种于FX-4000六孔板弹性膜上,置于培养箱内培养48~72 h。待细胞贴壁生长至80%融合后,换成FBS体积分数为2%的DMEM培养液继续培养12 h,使各组细胞状态达到同步。加载时采用FBS体积分数为1%的DMEM培养液,加载条件为6%、0.5 Hz。分别在2 h和6 h收集各孔板内的细胞RNA。以上实验均以未加载组作对照,对照组与实验组的细胞代数、接种密度及培养条件完全相同。

1.3 semi-quantitative PCR 实验

收集各不同实验条件下的细胞RNA,按照微量分光光度计测定的统一量度(200 ng),使用Takara的AMV反转录系统在42℃下反转录60 min。反转录结束后,收集cDNA样品并以相应的cDNA为模板进行GAPDH和BMP-2的PCR扩增。GAPDH和BMP-2基因的扩增探针分别为(上海生工合成): GAPDH上游引物 AAATTCATGGCACCGTCA-AGGCT;

下游引物 CTCATGGTTCACACCCATGACG-AA;
BMP-2上游引物 CGCTGTCTTCTAGCGTTGC,
下游引物 TCGTCAGAGGGCTGGGATG。

用于PCR实验的探针浓度均为1 mmol/L。PCR循环扩增条件分别为: BMP-2 94℃、30 s, 58℃、30 s, 72℃、30 s, 32循环; GAPDH 94℃、30 s, 55℃、30 s, 72℃、30 s, 28循环。循环结束后在72℃条件下继续扩增10 min。PCR产物置于4℃保存,并以琼脂糖凝胶电泳进行测定。

1.4 数据分析

实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 13.0统计分析软件以及单因素方差分析数据,检测各组之间是否存在差异, $P < 0.05$ 为具有统计学差异。

2 结果

2.1 BMP-2 mRNA在正常、RA、OA FLS间的差异

电泳结果如图1所示。

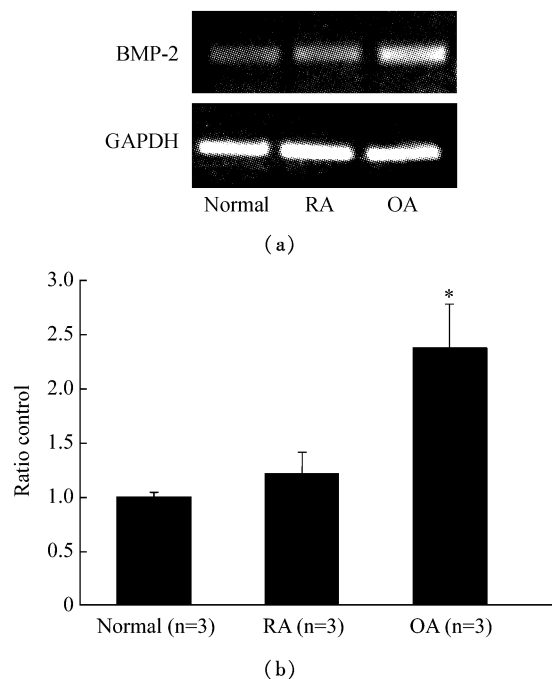


图1 BMP-2在正常、RA、OA FLS中表达的差异性 (a)实际电泳图片,(b)电泳条带OD值,* $P < 0.05$ 与正常组比较

Fig.1 Different expression of BMP-2 in normal, RA and OA FLS (a) Electrophoresis results, (b) Electrophoresis band opacity density (OD), * $P < 0.05$ compared with normal group

与正常组相比,RA FLS中的BMP-2 mRNA水平无显著性差异($P > 0.05$);OA FLS中的BMP-2

mRNA 的水平显著高于正常组和 RA 组 ($P < 0.05$), 约为正常组的 2.3 倍。

2.2 周期性力学加载对 FLS 中 BMP-2 mRNA 的影响

加载实验显示,在周期性力学加载的作用下,正常、OA、RA FLS 形态均发生明显改变,细胞变得更为细长,极性突起明显增多,且长轴与应变加载方向垂直,细胞排列趋于一致。这一现象随着加载时间

的增加而愈加明显,说明 FLS 受力后会发生适应性改变,排列与受力方向垂直。

PCR 扩增带相对比值统计学分析表明,与未加载组相比,频率为 0.5 Hz、拉伸幅度为 6% 的周期性力学加载作用 2 h 对各组 FLS 表达 BMP-2 mRNA 均无显著性影响。0.5 Hz、6% 的周期性力学加载 6 h 使 RA FLS 中的 BMP-2 mRNA 上升了约 2.8 倍,而对正常、OA FLS BMP-2 mRNA 无显著性影响(见图 2)。

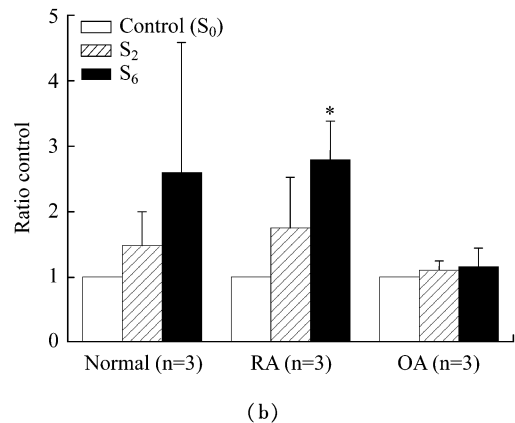
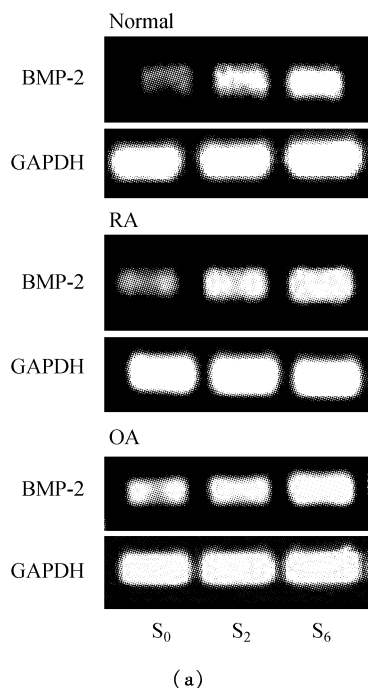


图2 周期性力学加载对正常、RA 和 OA FLS 表达 BMP-2 的影响 (a) 实际电泳图片, (b) 电泳条带 OD 值 (对照组 S₀, 实验组分别受周期性力学加载作用 2 h (S₂), 周期性力学加载作用 6 h (S₆), * $P < 0.05$ 与对照组比较)

Fig.2 Cyclic mechanical stimulation on the expression of BMP-2 in normal, RA and OA FLS (a) Electrophoresis results, (b) Electrophoresis band opacity density (OD) (Controlled FLS (S₀), cyclic mechanical stretching for 2 h (S₂) and 6 h (S₆), * $P < 0.05$ compared with control group)

2.3 炎症因子及炎症条件下的周期性力学加载对 FLS 中 BMP-2 mRNA 的影响

图 3 电泳结果显示炎症因子和周期性力学加载的共同作用对正常、RA 和 OA FLS 所产生的影响不同。5 $\mu\text{g/L}$ 的 IL-1 β 作用 2 h 和 6 h 后能够显著增加 RA FLS 中 BMP-2 mRNA 的水平;作用 6 h 时能够显著增加正常 FLS 中 BMP-2 mRNA 的水平;作用 2 h 时能够显著增加 OA FLS 中 BMP-2 mRNA 的水平,但作用 6 h 对 OA FLS 中 BMP-2 mRNA 的水平无显著影响(见图 3(b))。在炎症环境中,0.5 Hz、6% 的力学刺激作用 2 h 显著增加正常、RA FLS 中 BMP-2 mRNA 水平,而对 OA FLS 中 BMP-2 mRNA 水平无显著差异;作用 6 h 显著增加正常、OA、RA FLS 中 BMP-2 mRNA 水平(见图 3(c))。这表明,

IL-1 β 对 RA FLS 的影响较为明显;在较长时间(6 h)内显示出对正常 FLS 的影响;短时间(2 h)IL-1 β 的作用对 OA FLS BMP-2 mRNA 的改变较为显著,较长时间(6 h)的作用则对 OA FLS 无显著影响。在正常和 RA FLS 中,2 h、6 h 的周期性力学刺激和 IL-1 β 的共同作用对于 BMP-2 mRNA 均有明显的促进,OA FLS 中仅共同作用 6 h 对于 BMP-2 mRNA 有明显的促进作用。

3 讨论

BMPs 是一类多功能的细胞因子,可影响多种类型细胞的增殖、生长、分化及凋亡^[13-14],滑膜成纤维细胞也是其信号的特异性靶细胞之一。BMP-2 一般存在于 RA 和 OA 滑膜组织的衬里层,多位于 B

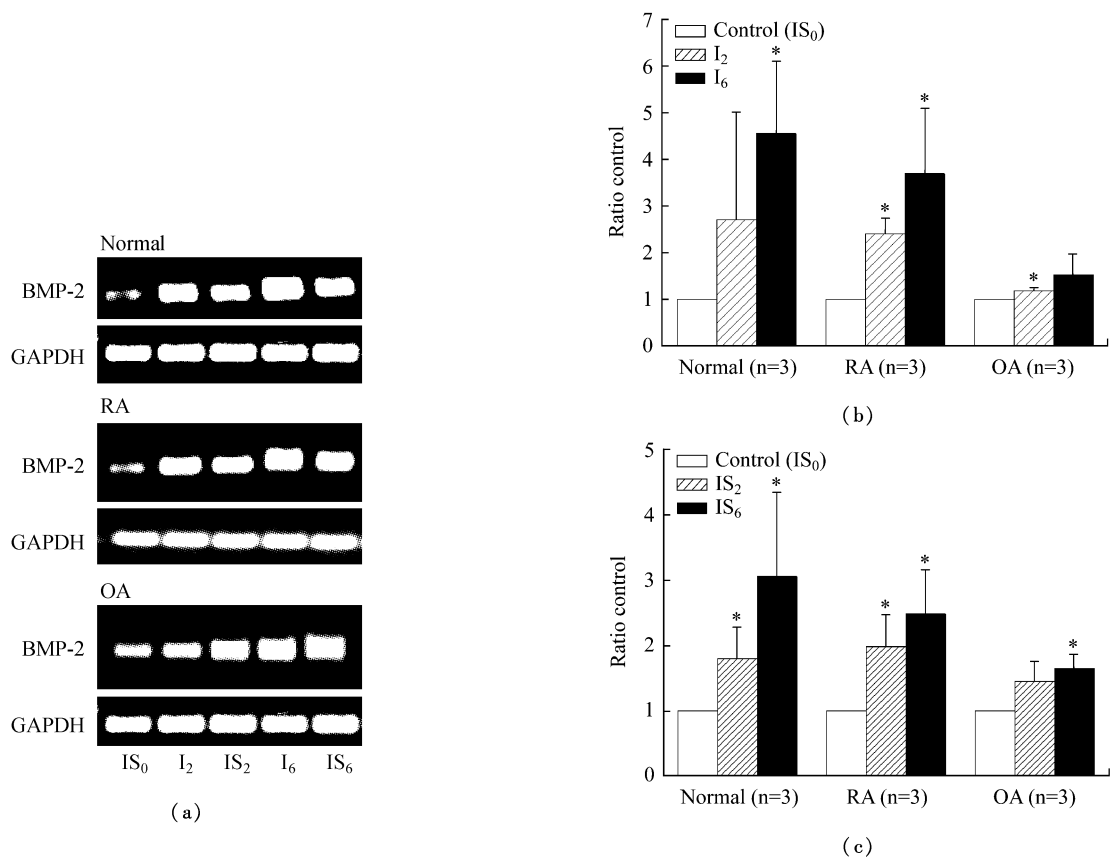


图3 IL-1 β 及IL-1 β 与力学刺激共同作用对BMP-2的诱导表达 (a)实际电泳图片,(b)电泳条带:IL-1 β 对BMP-2 mRNA影响OD值,(c)电泳条带:IL-1 β 和机械拉伸共同作用对BMP-2 mRNA影响OD值(对照组IS₀,实验组分别受IL-1 β 作用2 h(I₂),IL-1 β 作用6 h(I₆),受S+IL-1 β 作用2 h(IS₂),S+IL-1 β 作用6 h(IS₆),*P<0.05与对照组比较)

Fig.3 Influence of IL-1 β on the expression of BMP-2 in FLS and influence of cyclic mechanical stimulation on the expression of BMP-2 in FLS under the conditions of IL-1 β (a) Electrophoresis result, (b) Electrophoresis band opacity density (OD) of BMP-2 mRNA under IL-1 β , (c) Electrophoresis band opacity density (OD) of BMP-2 mRNA under co-effect of IL-1 β and mechanical stretch (Controlled FLS (IS₀), IL-1 β for 2 h (I₂), IL-1 β for 6 h (I₆), S+IL-1 β for 2 h (IS₂), S+IL-1 β for 6 h (IS₆), *P<0.05 compared with control group)

型即成纤维样滑膜细胞。结果表明,BMP-2 mRNA在正常、RA和OA FLS中的表达中具有显著性差异,提示BMP-2是OA患者局部病理性成骨过程中的关键成骨因子,在整个病理性成骨过程中发挥着重要作用,其机制可能为:OA FLS分泌BMP-2,同时与巨噬细胞、B细胞等共同分泌的IL-1 β 、bFGF等细胞因子刺激邻近的骨细胞、骨膜细胞分泌BMP-2;而成纤维细胞是高级的成骨细胞,局部高浓度BMP-2与bFGF等因子协同作用,促进成纤维细胞向成骨细胞转化,生成病理性骨组织,导致骨赘形成。作为唯一的异位成骨因子,BMP-2在OA FLS中的高表达说明OA FLS有更大的向成骨细胞分化的趋势,也可以借此推测BMP-2在骨赘形成的过程中起到

的重要作用,符合骨关节炎的发病机制研究^[4]。RA FLS中BMP-2的表达水平低于OA,提示两者发病机制上的差异。报道显示BMP-2在多种肿瘤中均有表达异常,以过表达为主:BMP-2在98%的非小细胞肺癌中异常高表达,而在肺良性肿瘤及正常肺组织中无表达^[15];BMP-2在前列腺癌、大肠癌、黑色素瘤及骨髓瘤及头颈部肿瘤中均过表达^[16]。这可能与BMP-2细胞增殖和凋亡的动态平衡相关。在RA FLS中,BMP-2一方面促进增殖,另一方面促进BMP-2阳性细胞的程序性凋亡。然而BMP-2对于成纤维细胞的增殖和凋亡是如何发挥作用的尚不清楚。

滑膜组织在发生、发育及行使功能的过程中都

伴随着力学刺激,而滑膜细胞的生物学性能是否同样受应力的调控,目前研究尚少。力学刺激转化成生物学信号传递至胞内,后者将调整基因的表达从而适应变化了的微环境。Tanno 等^[17]的研究表明,力学刺激能够显著影响脊柱后纵韧带成纤维细胞的 BMP-2 mRNA 表达。本文应用 Flex cell 4000 细胞应变加载系统,观察了滑膜细胞在周期性力学刺激下形态及 BMP-2 基因表达的变化,初步探索滑膜细胞的生物力学效应,以及力学因素在滑膜炎治疗中的潜在可能。结果表明,2 h 的力学刺激对 FLS 中 BMP-2 基因的表达无明显差异,6 h 的力学刺激对 RA FLS 中 BMP-2 基因的表达有显著的促进作用。所得结果提示在力学因素的影响下,与正常、OA FLS 相比,RA FLS 有更大的向成骨细胞分化的潜能。

已有的研究证明,在多种细胞中炎症因子对 BMP-2 表达具有促进作用,如 IL-1 和 TNF- α 均能够增强正常及 OA 软骨细胞内 BMP-2 的 mRNA 及蛋白表达水平^[18]。RA、OA 患者的滑液中往往会检出大量的炎症因子(TNF- α 、IL-1、IL-6 等)。Lories 等^[7]的研究证实 BMP-2 在滑膜细胞群中发挥着对炎症因子的应答作用,可能对 RA 滑膜修复有重要的影响。进一步研究结果表明,在 RA 和 OA FLS 中,力学刺激和炎症因子的协调机制不同。力学信号的传导与炎症因子的影响分别通过 2 条甚至是多条信号通路发挥作用,从而在不同的方向上影响细胞增殖和蛋白分泌,甚至可能起到相反的作用。本文中,短时间内(2 h)IL-1 β 的作用对 OA FLS BMP-2 mRNA 的改变较为显著,较长时间(6 h)的作用则对 OA FLS 无显著影响,暗示 OA FLS 对于炎症因子环境的适应能力;炎症条件和力学刺激的共同作用对正常、RA、OA FLS 表达 BMP-2 的不同程度的促进作用提示在正常及不同的病理条件下,炎症和运动对于滑膜表达 BMP-2 并不一致;炎症因子、力学刺激各自单独作用 6 h 对 OA FLS 无显著影响,但共同作用 6 h 后对 OA FLS 中 BMP-2 mRNA 产生协同效应,提示两者共同作用对 OA 病情的发生、发展有一定影响。炎症条件下 FLS 对于力学信号的不同应激反应可能对 RA 与 OA 的发病机制提供一定的线索,对 RA、OA 患者的运动疗法给予提示。

关节炎的发生发展是一个多基因参与、多因素

介导的过程,BMP-2 及其信号传导途径在 RA、OA 发生及发展中也是与别的因子或基因协同发挥作用的。本实验结果初步显示:在 RA 和 OA 发病机制中,炎症因子的影响可能比力学刺激更强。然而 BMP-2 在关节炎的病情控制中的作用仍然未知。相信随着研究的进一步深入,BMP-2 可为关节炎的基因治疗和生物治疗提供一个新思路。

参考文献:

- [1] 周振华,徐卫东,吴岳嵩. 滑膜成纤维细胞与类风湿性关节炎相关研究的进展[J]. 中华关节外科杂志(电子版),2008,2(6):692-696.
- [2] 张鹏,石关桐,郑显新. 膝关节滑膜细胞体外培养及生物学特性观察[J]. 中国骨伤,2006,19(11):656-658.
- [3] 汤继文,刘新宇. 骨关节病的诊治[J]. 山东医药,2000,40(15):43-44.
- [4] 李文,王广丽,张成琪,等. 早期骨关节炎的诊断和治疗研究进展[J]. 医学影像学杂志,2009,19(10):1344-1346.
- [5] Reddi A H. BMPs: From bone morphogenetic proteins to body morphogenetic proteins [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2005, 16(3): 249-250.
- [6] Matthews SJ. Biological activity of bone morphogenetic proteins (BMPs) [J]. Injury, 2005, 36(Suppl 3): 34-37.
- [7] Lories RJ, Derese I, Ceuppens JL, et al. Bone morphogenetic proteins 2 and 6, expressed in arthritic synovium, are regulated by proinflammatory cytokines and differentially modulate fibroblast-like synoviocyte apoptosis [J]. Arthritis Rheum, 2003, 48(10): 2807-2818.
- [8] Lories RJ, Luyten FP. Bone morphogenetic protein signaling in joint homeostasis and disease [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2005, 16(3):287-298.
- [9] Chen AL, Fang C, Liu C, et al. Expression of bone morphogenetic proteins, receptors, and tissue inhibitors in human fetal, adult, and osteoarthritic articular cartilage [J]. J Orthop Res, 2004, 22(6): 1188-1192.
- [10] Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Rheum, 1988, 31(3): 315-324.
- [11] Altman R, Asch E, Bloch D, et al. The American College of Rheumatology criteria for the classification and reporting of osteoarthritis of the knee [J]. Arthritis Rheum, 1986, 29: 1039-1049.
- [12] Wang P, Yang L, You X, et al. Mechanical stretch regulates the expression of matrix metalloproteinase in rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes [J]. Connect Tis-

- sue Res, 2009, 50(2): 98-109.
- [13] Schett G, Tohidast-Akrad M, Steiner G, *et al.* The stressed synovium [J]. *Arthritis Res*, 2001, 3(2): 80-86.
- [14] 彭吾训, 龚跃昆, 李世和, 等. BMP 在骨科领域中的临床应用研究进展[J]. *中华现代临床医学杂志*, 2005, 3(3): 215-218.
- [15] 霍艳英, 胡迎春, 张开泰, 等. 非小细胞肺癌组织中 Smad7 表达谱的改变[J]. *中国药物与临床*, 2005, 5(12): 894-896.
- [16] 吴建兵, 傅华群, 黄龙璋, 等. 骨形态发生蛋白 2、6 在肝癌中的表达及意义[J]. *世界华人消化杂志*, 2009, 17(8): 834-837.
- [17] Tanno M, Furukawa K I, Ueyama K, *et al.* Uniaxial cyclic stretch induces osteogenic differentiation and synthesis of bone morphogenetic proteins of spinal ligament cells derived from patients with ossification of the posterior longitudinal ligaments [J]. *Bone*, 2003, 33(4): 475-484.
- [18] Goto M, Sasano M, Yamanaka H, *et al.* Spontaneous production of an interleukin 1-like factor by cloned rheumatoid synovial cells in long-term culture [J]. *J Clin Invest*, 1987, 80(3): 78-96.
-

· 致读者 ·

关于书写论文作者单位名称的要求

作者在投稿时,首先应列出单位名称的全称,如已归属于综合大学的单位,应先列出大学名称,之后列出医学院名称或医院名称、科室名称;单位的英文名称应根据所在单位统一的英文名称书写;作者在向本刊投稿时,单位科研部门开具文稿推荐信上的公章内容,须与文稿中所书写的单位名称一致;由不同单位共同撰写的一篇文章,各个单位的名称均须分别列出,由第一作者所在单位开具文稿推荐信;如文稿作者为集体作者,应列出本文稿第一整理者(即第一执笔者)的姓名及工作单位;如文稿第一作者在投稿后工作单位有变动,原则上是列出原单位名称,现在的工作单位可在作者简介中予以注释。

本刊编辑部
2011-04-20