

文章编号:1004-7220(2020)02-0253-06

老龄关节软骨和软骨下骨的变化及相互作用 机制研究进展

任鹏玲¹, 牛海军^{1,2}, 宫赫^{1,2}, 樊瑜波^{1,2,3}

(1.北京航空航天大学 生物与医学工程学院,生物力学与力生物学教育部重点实验室,北京 100191;
2.北京航空航天大学 生物医学工程高精尖创新中心,北京 100083; 3.国家康复辅具研究中心,北京 100176)

摘要:衰老是骨关节炎(osteoarthritis, OA)和骨质疏松等疾病的主要影响因素。然而,它们并不是衰老的必然结果,而且与衰老有关的骨和软骨的变化与疾病发展之间的关系尚不清楚。研究表明,骨关节炎的发生和发展并不是简单的软骨磨损过程,它的发生包括整个关节各组织复杂的生物、化学和力学变化,特别是软骨和软骨下骨之间生化和力学的相互作用。衰老促成OA的发生和发展,但并不是直接导致OA的原因。与衰老相关的变化为OA的发生提供了一个基础,使关节更容易受到其他因素(如异常的生物力学和生物化学)影响,从而促进OA发展。因此,了解衰老影响关节组织的基本机制可能会为减缓或预防OA发展提供新的靶点。从衰老过程中软骨和软骨下骨的年龄相关性变化、力学传导作用和血管新生机制3个方面对相关研究进展进行综述。

关键词:关节软骨; 软骨下骨; 老龄; 相互作用机制

中图分类号: R 318.01 **文献标志码:** A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2020.02.020

Research Progress on Changes and Interaction Mechanisms of Aging Articular Cartilage and Subchondral Bone

REN Pengling¹, NIU Haijun^{1,2}, GONG He^{1,2}, FAN Yubo^{1,2,3}

(1. Key Laboratory for Biomechanics and Mechanobiology of Ministry of Education, School of Biological Science and Medical Engineering, Beihang University, Beijing 100191, China; 2. Beijing Advanced Innovation Center for Biomedical Engineering, Beihang University, Beijing 100083, China; 3. National Research Center for Rehabilitation Technical Aids, Beijing 100176, China)

Abstract: Aging is a major risk factor for diseases such as osteoarthritis (OA) and osteoporosis. However, they are not necessarily the results of aging, and the relationship between changes in bone and cartilage associated with aging and disease progression is still unclear. Studies have shown that the development and progression of OA is not a simple cartilage wear process, while its occurrence involves complex biological, chemical and mechanical changes in the tissues of the entire joint, especially the interaction of mechanics and biochemistry between cartilage and subchondral bone. Aging contributes to the occurrence and development of OA, but it is not the cause of OA. Changes associated with aging provide a foundation for OA to start, making joints more susceptible to other factors such as abnormal biomechanics and biochemistry, thereby promoting the development of OA. Therefore, understanding the basic mechanisms by which aging affects joint tissue may

收稿日期:2019-03-18; 修回日期:2019-04-19

基金项目:国家自然科学基金项目(11872095, 11432016, 31570945, 11421202),国家重点研发计划课题(2016YFB1101102)

通信作者:宫赫,教授,博士生导师,E-mail: bmgonghe@ buaa.edu.cn

provide new targets for slowing or preventing the development of OA. In this paper, the related research progresses are reviewed from three aspects, i. e. age-related changes in cartilage and subchondral bone, mechanical conduction and angiogenesis.

Key words: articular cartilage; subchondral bone; aging; interaction mechanism

关节软骨与软骨下骨组成一个精巧结构,它们通过特有的代谢方式来维持着自身的完整,并且共同承担着分配运动力学载荷和减缓冲击的作用。在正常生理状态下,这些功能可以持续数十年。然而,软骨退变疾病发生率极高,常引起关节功能障碍,65岁以上人群中有一半患有骨性关节炎(osteoarthritis, OA)^[1],故关节软骨退变多年来一直被学者们广泛关注。软骨退变与代谢、年龄、过度负载等许多因素有关。一般认为,衰老是造成大部分软骨退变的最主要因素之一,会引起软骨本身和软骨下骨组成成分、结构形态以及力学特性的变化。然而,衰老过程对于软骨和软骨下骨上述变化的影响程度及机制并不清楚,准确描述正常衰老过程中软骨和软骨下骨成分、结构、形态和力学特性的变化以及软骨与软骨下骨的相互作用机制,对于全面理解软骨退化机制具有重要意义。本文针对衰老过程中软骨和软骨下骨的生物力学传导、血管新生机制研究进展进行综述。

1 老龄软骨及软骨下骨的变化

1.1 软骨

关节软骨主要由软骨细胞和基质组成,细胞埋藏于基质内,可承受应力、吸收震荡、传递负荷、减少摩擦。关节软骨内基质的主要成分包括蛋白多糖(5%~10%)、II型胶原纤维(10%~20%)和含有多种离子水(70%~80%)^[2]。从宏观层次看,关节软骨随年龄的宏观变化包括:软骨变薄、变黄、表面磨损等。其中,表面磨损在强载荷区最容易出现,最明显的部位是膝关节和髌骨。而在分子水平上,表现为软骨基质的逐渐缺失,软骨水合作用降低,软骨细胞的数量和状态发生变化,这些变化影响着软骨正常的结构形态和力学性能^[3]。

1.1.1 软骨细胞 老年人的软骨细胞表现出典型的细胞衰老特征,如细胞因子和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)增多、氧化应激与损伤、生长因子反应减弱和细胞死亡增加^[4-5]。有研

究表明,老年人体内的软骨细胞端粒变短。这种现象是由于氧化应激的作用导致DNA损伤^[6]。与年轻大鼠相比,老龄大鼠软骨中也检测到细胞内活性氧水平升高。重要的是,衰老引起的氧化应激使人软骨细胞和大鼠软骨细胞更容易受到氧化剂介导的细胞死亡。然而,过度的机械负载或细胞因子刺激产生的活性氧也会导致DNA损伤和随后的端粒缩短^[7]。软骨细胞的寿命较长,使这些细胞特别容易受到衰老和外部压力变化的累积影响,软骨细胞的活性也显著改变^[8]。

软骨细胞衰老导致控制生长和增殖的调节蛋白活性和表达发生变化^[9]。衰老的软骨细胞表现出更明显的分解代谢活动和不太明显的合成代谢活动。与从年轻捐赠者提供的组织中分离出来的软骨细胞相比,老年人的软骨细胞在经刺激后分泌更多MMP-13。MMP-13是II型胶原裂解的主要因子^[10]。此外,研究表明,随着年龄增长,生长因子IGF-I刺激蛋白多糖和胶原蛋白生成的能力会下降^[11]。BMP-6刺激蛋白多糖合成的能力也被证明随着年龄的增长而下降^[12]。除了软骨细胞对生长因子刺激的反应能力下降,还有证据表明,随着年龄增长,软骨中某些生长因子的水平也会下降,例如TGF- β 2和TGF- β 3。由于细胞死亡的增加,软骨细胞衰老可导致软骨细胞数量的下降^[13]。据报道,在30~70岁,人类髌关节软骨细胞密度下降约60%^[14]。

1.1.2 细胞外基质 膝关节磁共振图像(magnetic resonance imaging, MRI)研究表明,随着年龄的增长,关节软骨变薄,尤其是在关节股骨侧和髌骨处^[15],表明软骨基质逐渐丧失。这可能是由于含水量降低,也有可能是细胞数量减少。关节软骨的水含量主要受糖胺聚糖(glycosaminoglycan, GAG)影响,GAG是软骨基质中一类非常复杂的大分子糖复合物,对软骨的弹性性能起重要作用。研究表明,GAG的大小、结构和硫化物作用随年龄的变化会降低软骨的弹性和含水量^[16]。软骨中与衰老相关的

基质蛋白修饰研究最多的是晚期糖基化终产物(advanced glycation end-products, AGEs)的积累。AGEs是在还原糖(葡萄糖、果糖或核糖)与赖氨酸或精氨酸残基发生反应时,蛋白质自发的非酶糖基化中产生的^[17]。由于软骨的转换率相对较低,故特别容易受到AGEs的影响。

Ⅱ型胶原是软骨中最丰富的基质蛋白,据计算其半衰期可达100年以上^[18]。尽管Ⅱ型胶原在软骨中有很长的半衰期,但有证据表明,随着年龄增长,胶原的周转率会增加。最常见的与年龄相关的交联是戊二胺,已被发现在软骨中随着年龄的增加而增加。过量胶原交联的形成影响软骨的生物力学特性,导致软骨刚度增加,使软骨更加脆化^[19]。

上述软骨细胞和软骨基质的年龄相关性变化可能导致组织在受到压力时不能充分维持稳态,从而导致基质破坏和丢失。衰老的软骨基质可能导致软骨细胞功能改变,也可能由于生物力学特性改变导致体内平衡丧失。在软骨衰老过程中,细胞产生的主要变化是数量减少和异常细胞分化。这些变化为软骨重塑和破坏过程的触发提供基础,最终表现为软骨退化。

1.2 软骨下骨

软骨下骨包括软骨下骨板和软骨下松质骨。软骨下骨板是一层薄的皮质骨,位于钙化软骨和松质骨之间。软骨下松质骨由骨小梁组成。正常生理状态下,软骨下骨具有重要的减震和支撑功能,并协同关节软骨传递负荷。此外,软骨下松质骨对关节软骨的营养供应和代谢也有重要作用。然而,随着年龄的增长或疾病的发展,软骨下骨形态结构和生化成分会发生改变,进而引发覆盖其上方软骨组织的退行性病变。

1.2.1 形态结构 软骨下骨的微结构不断地适应机械载荷,在力学传导的过程会导致骨缺损和骨重塑。随着年龄的增长,软骨下骨板厚度增加,骨软骨界面处孔隙率降低;而软骨下松质骨骨体积分数增大,骨小梁厚度增大,数量减少^[20]。然而,也有研究表明,老年人(年龄 > 69岁)的胫骨内侧软骨下骨硬化区域的厚度明显低于年轻人(年龄 < 40岁)或中年人(40~69岁)^[21]。这可能与软骨下骨区域的定义有关系,后者并没有包括软骨下松质骨区域。

1.2.2 生化成分 软骨下骨的主要成分为有机物(胶原、糖蛋白)和矿物质(主要为羟基磷灰石晶体)。研究表明,在生长和成熟过程中,马的软骨下骨的生物化学组成发生了显著变化^[22-23]:在出生后5个月内,水和羟赖氨酸的含量已经下降,而钙和胶原的含量以及羟吡啶胆碱和羟吡啶胆碱交联的数量显著增加;相比之下,5~11个月时,其生化指标基本保持不变,只是含水量有所下降^[22-23]。可见软骨下骨的生物化学组成在正常发育过程中发生了实质性的变化,这些变化很大程度上是由累积的力学载荷所驱动。软骨下骨和松质骨的矿物质含量在成熟过程中逐渐增加^[22]。此外,随着年龄的增长,软骨下骨胶原纤维相对于软骨表面或骨软骨交界处的平均取向角仍然非常接近于45°,即纤维方向没有变化,但是胶原纤维的平行度指数显著下降^[24]。

2 老龄软骨与软骨下骨的相互作用机制

关节软骨退变与软骨下骨异常相互影响。在生物力学方面,关节软骨承受压力性能强,但承受剪切力性能弱,软骨下骨密度和力学性能的变化,可使关节软骨的剪切应力异常,易出现软骨退变^[25];在分子生物学方面,软骨下骨板微孔隙增加,骨与软骨之间作用加强^[26],软骨下成骨细胞、破骨细胞、骨细胞可释放多种蛋白酶、炎性介质与生长因子,以促进其上层软骨细胞死亡和基质降解^[27]。现分别从生物力学和分子生物学方面综述衰老过程中软骨与软骨下骨相互作用机制的研究进展。

2.1 力学传导作用

关节软骨的最深层为钙化层,其与软骨下骨相邻,是软骨到软骨下骨的过渡,是力学传导的结构基础。在正常关节中,关节软骨组织承担着润滑、降低摩擦的作用,允许关节进行高效地滑动。然而,随着年龄的增加,累积的力学刺激会使关节软骨的状态发生改变,导致软骨的弹性模量下降,剪切模量也减小,具体表现为抗拉强度显著降低,关节软骨退化最早的区域出现在剪切应力区域变化最大的区域,软骨下骨的弹性模量也增加,两者之间相互影响^[28-29]。软骨下骨刚度增加,使其在关节软骨负载时无法发挥吸收和缓冲载荷的作用,从而可能导致关节软骨退化^[30-31]。关节运动时的力学

传导作用也会引起骨改建和重塑,导致软骨下骨微结构发生变化。局部应力的变化可能会导致软骨及软骨下骨的微损伤,软骨下骨小梁的微结构会由杆状改变为板状,可导致强度增加,使传递应力的能力减弱。同时,软骨下骨骨量增加,孔隙率降低,造成骨硬度增大^[32]。

当软骨与软骨下骨作为一个整体来看时,其刚度明显高于人体胫骨近端松质骨的刚度^[33],这可能是由于软骨下骨板的约束作用。有研究发现,将松质骨标本固定在薄层骨水泥上,可使其刚度增加40%^[34]。此外,与仅仅只有软骨层样本的力学性能变化趋势类似,随着年龄增长,骨软骨的刚度和弹性模量都呈现减小的趋势,并在50岁时明显减小^[33]。胶原蛋白含量和网络结构也会影响其力学性能^[35]。很明显,不仅细胞外基质的生化组成,而且其成分的空间排列对骨生物力学特性也非常重要。

2.2 血管新生机制

血管新生是正常生长发育、生殖周期和组织修复的必要条件。然而,血管新生也与病理有关,尤其是在OA中。关节软骨的钙化层和软骨下骨共同组织骨软骨交界。软骨钙化层结构致密,可限制软骨下骨的小分子物质扩散进入非钙化软骨,对于维持软骨生理微环境的稳定非常重要。因此,骨软骨交界的完整性对于维持软骨的正常结构及功能具有重要意义。

正常生理条件下,软骨是无血管的,故关节软骨通过骨软骨交界的屏障作用可以抵抗血管的侵入。然而,当软骨发生退化时,血管通道可能从软骨下骨延伸到软骨钙化层,并最终穿过潮线进入无血管的关节软骨。有研究发现,老年小鼠的关节中钙化软骨(接近潮线)的血管数量增加,并且软骨下骨和钙化软骨层变薄60%^[36]。可见,软骨下骨血管新生在软骨退化中起着重要的作用,但其作用机制尚不清楚。有研究认为,骨软骨交界的细胞表达血管生成因子,如血管内皮生长因子和血小板衍生生长因子,这些因子可能驱动其血管生成^[37]。由于软骨下骨与软骨之间通道的产生与软骨的微裂缝及微小孔洞有关^[38],因而机械应力是引起软骨退化的重要因素,尤其是在包含异常应力的作用情况时。

软骨下骨血管新生与其自身的骨重塑也有着

相关关系。研究发现,在人造的成熟兔膝关节损伤中,壳聚糖植入间隙可以导致软骨下骨的血管新生,进而促进骨重塑;当新生血管通过骨软骨交界时,会导致软骨细胞肥大,进而引起软骨内钙化^[39]。软骨细胞肥大已被认为是进行性OA的一个特征。在生长板软骨内成骨过程中,肥大软骨细胞释放血管内皮生长因子等血管生成因子,刺激软骨膜血管网络和软骨下骨间隙新生血管的生长。然而,血管生成也会伴随着感觉神经和交感神经的生长,由此产生的关节软骨的新神经支配还可以导致疼痛产生^[40]。总之,软骨下骨血管新生过程复杂,由多种因素和因子调控。

3 结语

正常的衰老过程并不是一种疾病,但它使人体容易受到年龄相关变化的影响。年龄是软骨退变和软骨下骨异常的主要因素,可能由于细胞和组织的衰老变化,使关节更容易受到损伤,更难以维持稳态。此外,衰老并不是针对某一组织,而是发生在整个关节各组织间的复杂渐进的化学、生物和力学的变化,特别是软骨和软骨下骨之间的力学传导作用、血管新生机制对于软骨的退变起重要作用。目前关于软骨下骨和软骨的力学传导作用、血管新生机制研究已取得了一些进展,但是有关此方面的基础研究开展尚少,今后应进一步加强此方面工作。

参考文献:

- [1] BIJLSMA JWJ, BERENBAUM F, LAFEBER FPJG. Osteoarthritis: An update with relevance for clinical practice [J]. *Lancet*, 2011, 377(9783): 2115-2126.
- [2] SOPHIA FOX AJ, BEDI A, RODEO SA. The basic science of articular cartilage: Structure, composition, and function [J]. *Sports Health*, 2009, 1(6): 461-468.
- [3] CARLO JR MD, LOESER RF. Increased oxidative stress with aging reduces chondrocyte survival: Correlation with intracellular glutathione levels [J]. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(12): 3419-3430.
- [4] JALLALI N, RIDHA H, THRASIVOULOU C, et al. Vulnerability to ROS-induced cell death in ageing articular cartilage: The role of antioxidant enzyme activity [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2005, 13(7): 614-622.
- [5] BLANEY DAVIDSON EN, SCHARSTUHL A, VITTERS

- EL, *et al.* Reduced transforming growth factor-beta signaling in cartilage of old mice: Role in impaired repair capacity [J]. *Arthritis Res Ther*, 2005, 7(6): 1338-1347.
- [6] MARTIN JA, KLINGLHUTZ AJ, MOUSSAVI-HARAMI F, *et al.* Effects of oxidative damage and telomerase activity on human articular cartilage chondrocyte senescence [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2004, 59(4): 324-336.
- [7] KURZ B, LEMKE AK, FAY J, *et al.* Pathomechanisms of cartilage destruction by mechanical injury [J]. *Ann Anat*, 2005, 187(5-6): 473-485.
- [8] LOESER RF. Aging and osteoarthritis: the role of chondrocyte senescence and aging changes in the cartilage matrix [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17(8): 971-979.
- [9] PARSCH D, BRUMMENDORF TH, RICHTER W, *et al.* Replicative aging of human articular chondrocytes during *ex vivo* expansion [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2002, 46(11): 2911-2916.
- [10] 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): 3723-3733.
- [11] FORTIER LA, BARKER JU, STRAUSS EJ, *et al.* The role of growth factors in cartilage repair [J]. *Clin Orthop Relat R*, 2011, 469(10): 2706-2715.
- [12] BOBACZ K, GRUBER R, SOLEIMAN A, *et al.* Expression of bone morphogenetic protein 6 in healthy and osteoarthritic human articular chondrocytes and stimulation of matrix synthesis *in vitro* [J]. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(9): 2501-2508.
- [13] AIGNER T, KIM HA, ROACH HI. Apoptosis in osteoarthritis [J]. *Rheum Dis Clin*, 2004, 30(3): 639-653.
- [14] BOBACZ K, ERLACHER L, SMOLEN J, *et al.* Chondrocyte number and proteoglycan synthesis in the aging and osteoarthritic human articular cartilage [J]. *Ann Rheum Dis*, 2004, 63(12): 1618-1622.
- [15] HUDRLMAIER M, GLASER C, HOHE J, *et al.* Age-related changes in the morphology and deformational behavior of knee joint cartilage [J]. *Arthritis Rheum*, 2001, 44(11): 2556-2561.
- [16] LAUDER RM, HUCKERBY TN, BROMN GM, *et al.* Age-related changes in the sulphation of the chondroitin sulphate linkage region from human articular cartilage aggrecan [J]. *Biochem J*, 2001, 358(2): 523-528.
- [17] VERZIUL N, BANK RA, TEKOPPEL JM, *et al.* Ageing and osteoarthritis: a different perspective [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2003, 15(5): 616-622.
- [18] VERZIUL N, DEGROOT J, THORPE SR, *et al.* Effect of collagen turnover on the accumulation of advanced glycation endproducts [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(50): 39027-39031.
- [19] CHEN AC, TEMPLE MM, NG DM, *et al.* Induction of advanced glycation end products and alterations of the tensile properties of articular cartilage [J]. *Arthritis Rheum*, 2002, 46(12): 3212-3217.
- [20] ANDERSON-MACKENZIE JM, QUASNICHKA HL, STARR RL, *et al.* Fundamental subchondral bone changes in spontaneous knee osteoarthritis [J]. *Int J Biochem Cell B*, 2005, 37(1): 224-236.
- [21] YAMADA, K, HEALEY, R, AMIEL, D, *et al.* Subchondral bone of the human knee joint in aging and osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2002, 10(5): 360-369.
- [22] WEEREN PR, BRAMA PAJ, BARNEVELD A. Exercise at young age may influence the final quality of the equine musculoskeletal system [C]//Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners. USA: [s. n.], 2000, 46: 29-35.
- [23] BRAMA PA, TEKOPPEL JM, BANK RA, *et al.* Biochemical development of subchondral bone from birth until age eleven months and the influence of physical activity [J]. *Equine Vet J*, 2002, 34(2): 143-149.
- [24] HOLOPAINEN JT, BRAMA PAJ, HALMESMAKI E, *et al.* Changes in subchondral bone mineral density and collagen matrix organization in growing horses [J]. *Bone*, 2008, 43(6): 1108-1114.
- [25] IMHOF H, SULZBACHER I, GRAMPP S, *et al.* Subchondral bone and cartilage disease: A rediscovered functional unit [J]. *Invest Radiol*, 2000, 35(10): 581-588.
- [26] BOTTER SM, OSCH GJ, CLOCKAERTS S, *et al.* Osteoarthritis induction leads to early and temporal subchondral plate porosity in the tibial plateau of mice; An *in vivo* micro-focal computed tomography study [J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(9): 2690-2699.
- [27] LAJEUNESSE D, REBOUL P. Subchondral bone in osteoarthritis: A biologic link with articular cartilage leading to abnormal remodeling [J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2003, 15(5): 628-633.
- [28] MORIYAMA H, KANEMURA N, BROUNS I, *et al.* Effects of aging and exercise training on the histological and mechanical properties of articular structures in knee joints of male rat [J]. *Biogerontology*, 2012, 13(4): 369-381.
- [29] GUO BY, LIAO DH, Li XY, *et al.* Age and gender related changes in biomechanical properties of healthy human costal cartilage [J]. *Clin Biomech*, 2007, 22(3): 292-297.
- [30] STENDER ME, CARPENTER RD, REGUEIRO RA, *et al.* An evolutionary model of osteoarthritis including articular

- cartilage damage, and bone remodeling in a computational study [J]. *J Biomech*, 2016, 49(14): 3502-3508.
- [31] ZUO Q, LU S, DU Z, *et al.* Characterization of nano-structural and nano-mechanical properties of osteoarthritic subchondral bone [J]. *BMC Musculoskel Dis*, 2016, 17(1): 367.
- [32] DING M. Microarchitectural adaptations in aging and osteoarthrotic subchondral bone issues [J]. *Acta Orthop*, 2010, 81(sup340): 1-53.
- [33] DING M, DALSTRA M, LINDE F, *et al.* Mechanical properties of the normal human tibial cartilage-bone complex in relation to age [J]. *Clin Biomech*, 1998, 13(4-5): 351-358.
- [34] HELGASON B, PERILLI E, SCHILEO E, *et al.* Mathematical relationships between bone density and mechanical properties: A literature review [J]. *Clin Biomech*, 2008, 23(2): 135-146.
- [35] LIN JC, GRAMPP S, LINK T, *et al.* Fractal analysis of proximal femur radiographs: Correlation with biomechanical properties and bone mineral density [J]. *Osteoporos Int*, 1999, 9(6): 516-524.
- [36] PAN J, WANG B, LI W, *et al.* Elevated cross-talk between subchondral bone and cartilage in osteoarthritic joints [J]. *Bone*, 2012, 51(2): 212-217.
- [37] WALSH DA, MCWILLIAMS DF, TURLEY MJ, *et al.* Angiogenesis and nerve growth factor at the osteochondral junction in rheumatoid arthritis and osteoarthritis [J]. *Rheumatology*, 2010, 49(10): 1852-1861.
- [38] MATHIEU C, CHEVRIER A, LASCAU-COMAN V, *et al.* Stereological analysis of subchondral angiogenesis induced by chitosan and coagulation factors in microdrilled articular cartilage defects [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(6): 849-859.
- [39] 袁雪凌, 汪爱媛, 孟吴业, 等. 兔膝关节炎进程中软骨下骨血管生成的实验研究[J]. *中华关节外科杂志*, 2013, 7(6): 52-55.
- [40] WALSH DA, MCWILLIAMS DF, TURLEY MJ, *et al.* Angiogenesis and nerve growth factor at the osteochondral junction in rheumatoid arthritis and osteoarthritis [J]. *Rheumatol*, 2010, 49(10): 1852-1861.