

物理治疗对骨性关节炎软骨细胞凋亡影响的研究进展*

任莎莎¹ 李雪萍^{1,2}

骨性关节炎(osteoarthritis, OA)是一种主要累及负重关节(髋、膝关节),以关节软骨变性、破坏及骨质增生为特征的慢性、退行性关节疾病。其病因和发病机制尚未完全明确,病理表现主要为软骨细胞和基质出现变形,伴有生化、分子水平、生物力学等改变,最终导致关节软骨的软化、纤维化、溃疡形成和缺失,软骨下骨硬化、骨赘及软骨下囊肿形成,造成关节的不可逆性损害。临床表现主要为关节红肿疼痛、无力、关节畸形、晨僵及功能障碍等^[1-3]。近年来对OA患者关节软骨进行组织细胞学研究发现,在分离的软骨细胞中出现了细胞凋亡(apoptosis)现象,并且软骨细胞凋亡的数量与OA的病程、病变程度具有高度一致性^[4],提示软骨细胞凋亡与OA的发病密切相关。相关研究还发现适当的物理治疗(包括物理因子和运动)作用于OA软骨细胞,通过影响软骨细胞凋亡途径及相关基因表达,调节软骨细胞凋亡率,从而达到缓解OA的目的^[5]。本文就OA与软骨细胞凋亡的联系及物理治疗对OA软骨细胞凋亡的影响作一综述。

1 软骨细胞凋亡与骨性关节炎

1.1 软骨细胞凋亡

细胞凋亡是有核细胞在基因调控下,能量依赖的细胞内死亡程序被激活而引发的细胞自然死亡、自我清除的过程,也称之为程序性死亡。

正常关节软骨中可发生细胞凋亡,该现象是调控关节软骨生长发育、控制软骨细胞功能状态、维持关节内微环境稳定所必需的生理性现象^[6]。研究发现正常关节软骨中只有2%—5%凋亡细胞,而OA软骨细胞中有18%—21%的软骨细胞表现出凋亡特征,且OA软骨细胞凋亡多发生于关节软骨的表层和中层^[7-8]。有关研究还发现软骨细胞的过度凋亡是关节软骨退变发展成骨性关节炎的重要原因,关节软骨细胞凋亡参与了骨性关节炎的发病^[9]。在对动物或人进行的在体及体外实验发现OA中软骨细胞凋亡的比例增高,进一步说明在OA发生、发展的病理过程中,软骨细胞凋亡发挥了重要作用^[10]。

1.2 软骨细胞凋亡的途径

细胞凋亡的信号转导机制十分复杂。目前认为至少有三条通路参与:膜受体途径、线粒体途径和内质网应激反应性凋亡途径^[11]。

1.2.1 膜受体途径即细胞膜上的死亡受体途径:各种外界因素是细胞凋亡的启动因子,它们可通过不同的信号传递系统传递凋亡信号,引起细胞凋亡,也称外源性凋亡途径。主要有Fas、TNFR2、TNFR3、DR3、DR4、DR5、DcR1和DcR2,它们均属于肿瘤坏死因子受体超家族成员。其中研究最透彻的是死亡因子受体(Fas)/死亡因子Fas配体(Fas L)途径^[11-12]。

Fas(又称Apo-1或CD95)是一种含有335个氨基酸的I型跨膜糖蛋白,它与Fas L结合后,Fas胞内段的Fas相关死亡结构域(Fas-associated death domain, FADD)可启动对半胱天冬氨酸蛋白酶-8(caspase-8)、半胱天冬氨酸蛋白酶-10(caspase-10)的募集反应^[13]。激活的caspase-8既可直接启动细胞内半胱天冬氨酸蛋白酶-3(caspase-3)级联反应,又可将位于胞浆的促凋亡蛋白Bid切割成截断的Bid(tBid),tBid有很强的促凋亡活性,再次作用于线粒体释放细胞色素C(Cytc),通过半胱天冬氨酸蛋白酶-9/3(caspase-9/3)发挥促凋亡作用^[14]。

OA患者中,受损区软骨细胞的凋亡比例明显高于未受损区,Fas表达的结果与其相符,OA受损区的Fas表达远高于未受损区,提示Fas表达可能诱导了OA软骨细胞凋亡^[15]。采用流式细胞仪和免疫组化检测发现正常组和OA组关节软骨表层均存在Fas/CD95表达,但两组间无显著差异^[16]。进一步研究发现鸟苷可增强Fas/Fas L的相互作用,从而诱导软骨细胞凋亡,证实了Fas途径与软骨细胞凋亡有关^[17]。

1.2.2 线粒体途径:又称内源性凋亡途径,线粒体是细胞发生凋亡的主要调控场所并参与了大多数细胞凋亡的调控过程。调控OA软骨细胞凋亡的线粒体途径中最常见的是一氧化氮(NO)途径^[18]。

NO是一种自由基,由限速酶一氧化氮合酶(NOS)催化L-精氨酸转换成L-瓜氨酸的过程中生成,NO在局部激活鸟苷酸环化酶,升高细胞内环磷酸鸟苷(cGMP)水平,发挥其生物学效应。研究发现NO可以诱导软骨细胞凋亡及分化^[19],故应用NO供体硝普钠诱导建立软骨细胞凋亡模型已成为

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2014.09.022

*基金项目:国家自然科学基金资助项目(81272151)

1 南京医科大学附属南京医院(南京市第一医院)康复医学科,南京,210006; 2 通讯作者
作者简介:任莎莎,女,硕士研究生; 收稿日期:2013-09-15

一种常用的实验手段。NO供体硝普钠诱导人关节软骨细胞凋亡机制包括增加caspase-3和caspase-7 mRNA的表达,降低抗凋亡蛋白Bcl-2表达^[20],同时引起DNA断裂、细胞骨架重构、线粒体功能障碍^[21]、caspase活化、细胞色素C的释放等效应^[22]。

将人软骨细胞经NO内源性供体磷脂多糖或外源性供体硝普钠和干扰素- α 、NO、活性氧、细胞色素C干预后,均可导致DNA裂解和caspases-3活性升高,用NO合酶抑制剂L-单甲基精氨酸治疗OA则能有效降低NO及相关细胞凋亡标志物的表达,该实验有力证明了NO可诱导OA软骨细胞凋亡^[20]。有关研究还表明,白介素-1(IL-1)和肿瘤坏死因子- α 调控OA软骨细胞凋亡的作用也经NO途径来实现^[23]。

1.2.3 内质网应激反应性凋亡途径:是近年发现的一条新的凋亡通路。内质网应激是指由于各种原因引起细胞内质网功能紊乱,导致错误折叠或未折叠蛋白在内质网腔内聚集的病理状态。

目前,已知内质网应激诱导细胞凋亡的途径有三条:①CHOP/GADD153基因的激活转录;②JNK的激活通路;③内质网特有的半胱氨酸蛋白酶caspase-12的激活通路^[12]。大量研究表明,内质网在软骨细胞凋亡信号处理过程中发挥重要作用,导致下游caspases和其他蛋白酶的激活,但机制还不明确^[24]。

1.3 软骨细胞凋亡相关基因的表达

1.3.1 Bcl-2 基因家族:包括凋亡前体蛋白(pro-apoptotic protein)及生存前体蛋白(pro-survival protein),根据成员结构和功能的不同可以分为抗凋亡成员Bcl-2、Bcl-xL和促进凋亡成员Bax、Bak和Bid、Bim等BH3-only蛋白^[25]。研究认为,Bcl-2家族主要定位于内质网膜、线粒体膜等部位,通过调控内质网内 Ca^{2+} 浓度,调节线粒体膜的通透性、影响膜电位及细胞色素C释放来促进或抑制细胞凋亡^[26]。

Bcl-2、Bax基因是Bcl-2基因家族中与细胞凋亡相关的两个重要的基因。Bcl-2基因位于18号染色体,具有抑制细胞凋亡和延长细胞寿命的功能^[27],研究发现Bcl-2可部分抑制NO诱导的软骨细胞凋亡^[28]。Bax基因位于11号染色体,具有诱导细胞凋亡的功能,研究表明在OA软骨细胞凋亡的过程中,Bax的表达升高^[25]。

1.3.2 P53 基因:位于17号染色体,分为突变型和野生型,是细胞凋亡的重要调节因子,其表达属于细胞凋亡上游事件。研究发现P53可通过Bcl-2家族中启动和调节细胞凋亡的重要成员BH3-only蛋白激活Bax、正调控P53上调凋亡调控因子(P53 upregulated modulator of apoptosis, PUMA)和促凋亡BH-only蛋白亚家族成员之一的Noxa、抑制Bcl-2等多种途径共同诱导细胞凋亡^[29]。野生型P53基因可促进NO诱导的软骨细胞凋亡,在细胞中呈阳性表达,其机制可能是P53

基因表达产物的聚集使Bax的表达增加,进而释放细胞色素C并激活caspases,导致细胞发生凋亡^[30]。

有关研究发现,P53在OA关节软骨细胞凋亡中发挥了重要作用。通过检测兔P53 mRNA水平及凋亡细胞数量的研究发现兔膝OA组中明显高于正常组,从而提示P53在OA关节软骨细胞凋亡中发挥了重要作用,P53调控的凋亡诱导蛋白-1(P53AIP-1)可在P53依赖性细胞凋亡中过度表达^[31]。国外学者研究发现在OA和正常软骨细胞均有P53的表达,OA软骨细胞较正常软骨细胞P53和P53AIP-1的表达更高,而P53和P53AIP-1下调则可抑制OA软骨细胞凋亡^[32]。

1.3.3 c-myc 基因:是myc基因家族中的一员,位于8号染色体,既是一种多种物质调节的可调节可易位的基因,又是一种可使细胞无限增殖,获永生功能的基因。c-myc蛋白的靶基因主要编码与细胞周期和细胞凋亡相关的蛋白质等,激活或抑制多种靶基因的转录,促进细胞增殖或诱导细胞凋亡。

研究表明c-myc蛋白可激活P53基因,上调P53蛋白的表达^[33]。c-myc基因还可和P53基因组成多种调控网络,如c-myc/P53/14-3-3 sigma网络,其中的14-3-3 sigma是细胞周期负调节因子,是P53的下游靶基因,受P53基因的调控,可引起细胞间期中DNA合成后期(G2期)阻滞,也可与细胞周期蛋白P21循环正反馈,促进细胞凋亡^[34]。

c-myc在正常软骨细胞核中无表达,但在凋亡的软骨细胞核中呈散在表达^[30]。对正常人关节软骨与OA关节软骨细胞比较发现,OA关节软骨细胞凋亡的程度与软骨退变的程度呈正相关,且c-myc参与了软骨细胞凋亡的全过程^[35]。

1.3.4 ICE 基因:又称为半胱氨酸蛋白酶(cysteine containing aspartate specific protease, caspase)。caspase家族共分为三类:凋亡启动因子(apoptotic initiators)、凋亡执行因子(apoptotic executioners)及炎症介导因子(inflammatory mediators),并且构成了级联放大效应。目前已发现的caspases至少有14种^[36]。

caspase-3是主要的效应caspase,与细胞凋亡的某些特征性标志,如染色体凝聚和DNA片段化等有着直接联系,同时还是多种凋亡途径的共同下游效应部分,因此caspase-3被称为“死亡执行蛋白酶”^[37]。正常活细胞中的caspase以无活性酶原形式(pro-caspase)存在,当受到凋亡诱导信号刺激时,通过对天冬氨酸残基位点的蛋白水解而激活,进而引发caspase一系列级联反应,导致细胞发生凋亡。通过体外培养软骨细胞,诱导其凋亡,观察到凋亡发生时,caspase-3基因和蛋白表达均出现显著上升趋势^[38]。

caspase-3在OA软骨细胞凋亡中也发挥着重要作用。对狗OA的关节软骨研究中发现,在OA中软骨细胞凋亡率和caspase-3的表达都高于正常,并且随着OA程度的加重软骨细

胞凋亡率和caspase-3的表达也相应增加,两者呈正相关^[39]。研究还发现,caspase-3在OA患者的软骨中大面积分布^[40]。

2 物理治疗对关节软骨细胞凋亡的影响

物理治疗主要包括运动疗法、电疗法、光疗法及其他疗法。近年来国内外相关研究发现物理治疗通过影响凋亡相关途径及相关基因表达,调节OA软骨细胞凋亡率,从而延缓OA关节软骨退变,保护关节软骨。有关运动疗法对软骨细胞凋亡的影响报道较少。相关研究通过制备大鼠过度运动模型发现过度运动可引起软骨细胞凋亡,可能与过度运动大量自由基聚集引起凋亡水平升高有关^[41]。

2.1 物理治疗对凋亡途径的影响

2.1.1 对膜受体途径的影响:细胞的过度凋亡加速软骨组织退变,手法可产生力学刺激效应促进软骨代谢物质的交换。戴七一^等通过制备兔膝OA模型,分为正常组、假手术组、模型组、手法组和针剂组,相比于正常组,模型组胫骨平台软骨组织中Bcl-2、Bax、Fas表达率明显升高,而手法组和针剂组胫骨平台软骨组织中Bcl-2表达升高,而Bax、Fas表达率明显降低。该结果发现运用揉髌手法可明显降低OA软骨细胞凋亡率,其作用机制与上调Bcl-2及下调Bax和Fas的表达有关^[42]。

2.1.2 对线粒体途径的影响:毫米波通过极高频的谐振产生生物学效应和治疗作用,研究表明毫米波可抑制软骨细胞凋亡相关的线粒体途径,在毫米波对NO诱导的OA软骨细胞凋亡效应的实验中发现,P53与caspase-3的表达均下降,该现象说明毫米波可抑制NO诱导的OA软骨细胞凋亡,延缓软骨退变^[43-44]。

体外冲击波(extracorporeal shock wave, ESW)是一种高能机械波。赵喆^等^[45]通过建立兔膝OA模型,体外培养软骨细胞证实了ESW作为机械应力在一定能量强度和次数的情况下可显著促进软骨细胞增殖,同时发现ESW可通过抑制软骨细胞中caspase-3的表达,减少关节液中NO含量来抑制软骨细胞的凋亡,实现延缓软骨退变,发挥软骨保护功能。

氧自由基损伤是关节衰老和变性的重要因素,过量的氧自由基抑制软骨细胞增殖,引起软骨细胞凋亡。乔鸿飞^等^[46]通过研究超短波对兔OA自由基代谢的影响,发现超短波治疗可提高血清超氧化物歧化酶(SOD)含量,降低丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)含量,达到了保护关节软骨,降低骨性关节炎的目的。

有关超低频电磁场对硝普钠诱导的软骨细胞凋亡的影响研究中,通过NO供体药物硝普钠诱导软骨细胞凋亡,模拟OA患者关节内微环境,同时加以超低频电磁场干预,体外培养细胞观察结果显示超低频电磁场可抑制NO供体硝普钠诱导的体外培养的大鼠软骨细胞的凋亡^[47]。

2.2 物理治疗对凋亡相关基因的影响

2.2.1 对Bcl-2、Bax的影响:超声波与声波的性质相似,都是物体的振动在弹性介质中传播形成的机械振动波,其治疗原理是机械效应、热效应和理化效应。颜益红^等采用动物实验研究超声波和运动疗法对兔实验性骨关节炎软骨细胞凋亡、Bcl-2和MMP-13表达的影响,得出如下结论:①OA模型中存在Bcl-2表达下降,细胞凋亡增加,MMP-13表达增加。②运动疗法及超声波可促进Bcl-2表达,降低实验性骨关节炎中升高的软骨细胞凋亡率,抑制软骨细胞凋亡。③抑制MMP-13的表达,减轻软骨及滑膜炎症,可能是运动疗法及超声波治疗骨性关节炎的机制之一。④运动疗法及超声波疗法均可促进关节软骨损伤的修复^[48]。

研究发现低频脉冲电刺激可上调大鼠细胞X连锁凋亡抑制蛋白mRNA和下调Bax mRNA的表达,这可能是治疗骨性关节炎的机制^[49]。

2.2.2 对P53的影响:动态温热疏密波是疏波和密波交替出现的一种波形,疏密交替持续的时间各约1.5s,具有促进代谢、血液循环、改善组织营养等功效,疏密交替持续的时间可对人体产生电刺激发挥作用。林木男^等经动物实验研究发现动态温热疏密波能有效下调软骨细胞P53mRNA表达,上调P21、Bcl-2 mRNA表达,从而抑制软骨细胞的凋亡,延缓关节软骨退变^[50]。

2.2.3 对caspase-3的影响:在有关低剂量激光疗法对兔膝OA软骨细胞凋亡和caspase,包括caspase-3和caspase-8表达影响的研究中,将新西兰大白兔随机分为正常组、模型组和实验组,模型组和实验组给予造模处理,实验组造模6周后给予810nm低剂量激光治疗2周,分别采用免疫组化和TUNEL检测caspase表达和软骨细胞凋亡率,实验结果表明810nm低剂量激光疗法可改善软骨细胞结构,抑制关节软骨退变,显著降低OA软骨细胞中caspase-3表达,caspase-8只是存在下降趋势。卫荣^等研究沙疗对兔膝关节炎关节软骨中caspase-3、Bcl-2、Bax及凋亡蛋白表达的影响,结果发现沙疗能抑制兔OA凋亡细胞caspase-3、Bax/Bcl-2、TUNEL的表达^[51-52]。

在不同治疗时间的毫米波干预OA软骨细胞凋亡的研究中发现,40min治疗时间比20min更有利于骨性关节炎软骨结构,降低软骨细胞凋亡和caspase-3和MMP-13的表达,但发现caspase-8表达只是有下降的趋势^[53]。

3 小结

大量研究证明,软骨细胞凋亡与OA发病相关,而物理治疗通过影响凋亡相关途径及相关基因表达调节OA软骨细胞凋亡率,从而延缓OA软骨退变。随着新的软骨细胞凋亡基因和凋亡途径不断地被发现,物理治疗对OA软骨细胞

凋亡机制的影响也在不断探索中,或将成为未来研究重点。

参考文献

- [1] Schroeppel JP, Crist JD, Anderson HC, et al. Molecular regulation of articular chondrocyte function and its significance in osteoarthritis[J]. *Histol Histopathol*, 2011, 26(3):377—394.
- [2] Koopman WJ, Moreland LW. Arthritis and Allied Conditions (15rd)[M].天津:天津科技翻译出版社, 2010.2018—2020.
- [3] 柳围堤.骨性关节炎与细胞因子相关性研究进展[J].*航空航天医学*,2010,(21):1581—1584,1611.
- [4] Moskowitz RW, Howell DS, Altman RD, et al. Osteoarthritis Diagnosis and Medical/ Surgical Management(3rd)[M].天津:天津科技翻译出版社, 2005.109—110.
- [5] Guo H, Luo Q, Zhang J, et al. Comparing different physical factors on serum TNF- α levels, chondrocyte apoptosis, caspase-3 and caspase-8 expression in osteoarthritis of the knee in rabbits[J]. *Joint Bone Spine*, 2011, 78(6):604—610.
- [6] Johnson EO, Charchandi A, Babis GC, et al. Apoptosis in osteoarthritis: morphology, mechanisms, and potential means for therapeutic intervention[J]. *J Surg Orthop Adv*, 2008, 17(3):147—152.
- [7] 白宁,金莲锦.兔发热诱导热休克转录因子1聚合对体温及下丘脑cAMP含量的影响[J].*第二军医大学学报*,2008,29(7):773—779.
- [8] Saito S, Murakoshi K, Kotake S, et al. Granzyme B induces apoptosis of chondrocytes with natural killer cell-like cytotoxicity in rheumatoid arthritis[J]. *J Rheumatol*, 2008, 35(10):1932—1943.
- [9] Musumeci G, Loreto C, Carnazza ML, et al. Characterization of apoptosis in articular cartilage derived from the knee joints of patients with osteoarthritis[J]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2011, 19(2):307—313.
- [10] Caramés B, Taniguchi N, Otsuki S, et al. Autophagy is a protective mechanism in normal cartilage, and its aging-related loss is linked with cell death and osteoarthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(3):791—801.
- [11] 李超,伏圣博.细胞凋亡研究进展[J].*世界科技研究与进展*, 2007,29(3):45—53.
- [12] 赵彦超,顾耘.细胞凋亡通路研究进展[J].*现代医学*,2013,41(4):285—288.
- [13] Otsuki T, Hayashi H, Nishimura Y, et al. Dysregulation of autoimmunity caused by silica exposure and alteration of Fas-mediated apoptosis in T lymphocytes derived from silicosis patients[J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2011, 24(1 Suppl):11S—16S.
- [14] 焦俊霞,高维娟.细胞凋亡的信号转导机制研究机制[J].*中国老年学杂志*,2010,30(6):853—856.
- [15] Kim HA, Lee YJ, Seong SC, et al. Apoptotic chondrocyte death in human osteoarthritis[J]. *J Rheumatol*, 2000, 27(2):455—462.
- [16] Iannone F, De Bari C, Scioscia C, et al. Increased Bcl-2/p53 ratio in human osteoarthritic cartilage: a possible role in regulation of chondrocyte metabolism[J]. *Ann Rheum Dis*, 2005, 64(2):217—221.
- [17] Kim DJ, Chung JH, Ryu EK, et al. Metabolic loading of guanosine induces chondrocyte apoptosis via the Fas pathway[J]. *Exp Mol Med*, 2006, 38(4):401—407.
- [18] Ryu JH, Shin Y, Huh YH, et al. Hypoxia-inducible factor-2 α regulates Fas-mediated chondrocyte apoptosis during osteoarthritic cartilage destruction[J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19(3):440—450.
- [19] Abramson SB, Attur M, Amin AR, et al. Nitric oxide and inflammatory mediators in the perpetuation of osteoarthritis[J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2001, 3(6):535—541.
- [20] Maneiro E, López-Armada MJ, de Andres MC, et al. Effect of nitric oxide on mitochondrial respiratory activity of human articular chondrocytes[J]. *Ann Rheum Dis*, 2005, 64(3):388—395.
- [21] Wu GT, Chen TG, Chang HC, et al. Nitric oxide from both exogenous and endogenous sources activates mitochondria-dependent events and induces insults to human chondrocytes[J]. *J Cell Biochem*, 2007, 101(6):1520—1531.
- [22] Cherng YG, Chang HC, Lin YL, et al. Apoptotic insults to human chondrocytes induced by sodium nitroprusside are involved in sequential events, including cytoskeletal remodeling, phosphorylation of mitogen-activated protein kinase kinase kinase-1/c-Jun N-terminal kinase, and Bax-mitochondria-mediated caspase activation[J]. *J Orthop Res*, 2008, 26(7):1018—1026.
- [23] López-Armada MJ, Caramés B, Lires-Deán M, et al. Cytokines, tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β , differentially regulate apoptosis in osteoarthritis cultured human chondrocytes[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2006, 14(7):660—669.
- [24] 马钢,任明姬.骨性关节炎软骨细胞凋亡的研究[J].*中国组织化学和细胞化学杂志*,2011,21(2):196—200.
- [25] Ola MS, Nawaz M, Ahsan H. Role of Bcl-2 family proteins and caspases in the regulation of apoptosis[J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 351(1—2):41—58.
- [26] Tang Y, Zhang DY, Wu XM. Progress in small-molecule inhibitors of Bcl-2 family proteins[J]. *Yao Xue Xue Bao*, 2008, 43(7):669—677.
- [27] Oshima Y, Akiyama T, Hikita A, et al. Pivotal role of Bcl-2 family proteins in the regulation of chondrocyte apoptosis

- [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(39):26499—26508.
- [28] Surendran S, Kim SH, Jee BK, et al. Anti-apoptotic Bcl-2 gene transfection of human articular chondrocytes protects against nitric oxide-induced apoptosis[J]. *J Bone Joint Surg Br*, 2006, 88(12):1660—1665.
- [29] 章权,章建华.骨性关节炎软骨细胞凋亡及其调控基因的研究进展[J].*浙江中西医结合杂志*,2013,23(3):242—244.
- [30] Fang J, Chen L, Fan L, et al. Enhanced therapeutic effects of mesenchymal stem cells on myocardial infarction by ischemic postconditioning through paracrine mechanisms in rats[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2011, 51(5):839—847.
- [31] Okazaki R, Sakai A, Ootsuyama A, et al. Apoptosis and p53 expression in chondrocytes relate to degeneration in articular cartilage of immobilized knee joints[J]. *J Rheumatol*, 2003, 30(3):559—566.
- [32] Hashimoto S, Nishiyama T, Hayashi S, et al. Role of p53 in human chondrocyte apoptosis in response to shear strain [J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(8):2340—2349.
- [33] Sachdeva M, Zhu S, Wu F, et al. p53 represses c-Myc through induction of the tumor suppressor miR-145[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(9):3207—3212.
- [34] Su YW, Hao Z, Hirao A, et al. 14-3-3 sigma regulates B-cell homeostasis through stabilization of FOXO1[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(4):1555—1560.
- [35] Yatsugi N, Tsukazaki T, Osaki M, et al. Apoptosis of articular chondrocytes in rheumatoid arthritis and osteoarthritis: correlation of apoptosis with degree of cartilage destruction and expression of apoptosis-related proteins of p53 and c-myc[J]. *J Orthop Sci*, 2000, 5(2):150—156.
- [36] 江雨霏,沈波.caspase基因与类风湿性关节炎易感性的关系[J].*医学研究杂志*,2011,40(2):125—127.
- [37] Huang WW, Ko SW, Tsai HY. Cantharidin induces G2/M phase arrest and apoptosis in human colorectal cancer colo 205 cells through inhibition of CDK1 activity and caspase-dependent signaling pathways[J]. *Int J Oncol*, 2011, 38(4):1067—1073.
- [38] 吴志新,胡春燕,王兰.体外培养过程中软骨细胞凋亡与 caspase-3 基因表达的关系[J].*陕西医学杂志*,2012,(41):25—26.
- [39] Pelletier JP, Jovanovic DV, Lascau-Coman V, et al. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces progression of experimental osteoarthritis in vivo: possible link with the reduction in chondrocyte apoptosis and caspase-3 level[J]. *Arthritis Rheum*, 2000, 43(6):1290—1299.
- [40] Zhao H, Qiu GX, Guan J, et al. Correlation of apoptosis of articular chondrocytes in osteoarthritis with degree of cartilage destruction and expression of apoptosis-related proteins: surviving, caspase-3, and Bcl-xl[J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2008, 88(19):1339—1341.
- [41] 李军勇,伊力哈木·托合提.过度运动对大鼠膝关节软骨细胞凋亡的影响[J].*新疆医科大学学报*,2011,34(11):1228—1231,1236.
- [42] 戴七一,阮萍.揉髌手法对兔膝关节软骨细胞凋亡及 Bcl-2、Bax 和 Fas 表达的影响[J].*中国组织工程研究与临床康复*,2011,46(15):8556—8560.
- [43] Li X, Du M, Liu X, et al. Millimeter wave treatment inhibits NO- induced apoptosis of chondrocytes through the p38MAPK pathway[J]. *Int J Mol Med*, 2010, 25(3):393—399.
- [44] Wu G, Sferra T, Chen X, et al. Millimeter wave treatment inhibits the mitochondrion-dependent apoptosis pathway in chondrocytes[J]. *Mol Med Rep*, 2011, 4(5):1001—1006.
- [45] 赵喆.体外冲击波对兔骨性关节炎软骨细胞凋亡及 Caspase-3 活性影响的实验研究[D].*河北医科大学*,2008.
- [46] 乔鸿飞,雷建林,杨峰.超短波对家兔膝关节骨性关节炎自由基代谢影响的实验研究[J].*陕西医学杂志*,2010,39(5):536—538, 546.
- [47] 雷鸣,郭风劲,许涛.超低频电磁场对硝普钠诱导的软骨细胞凋亡的影响[J].*Chinese Journal of Rehabilitation*,2005,20(3):134—136.
- [48] 颜益红.超声波和运动疗法对兔膝关节关节炎软骨细胞凋亡, BCL-2 和 MMP-13 的影响[D].*中南大学*.2012.
- [49] Li S, Luo Q, Huang L, et al. Effects of pulsed electromagnetic fields on cartilage apoptosis signaling pathways in ovariectomised rats[J]. *Int Orthop*, 2011, 35(12):1875—1882.
- [50] 林木南,李西海,刘献.动态温热疏密波对软骨细胞凋亡调控基因表达的影响[J].*中医正骨*,2012,24(8):3—7.
- [51] Lin HD, He CQ, Luo QL, et al. The effect of low-level laser to apoptosis of chondrocyte and caspases expression, including caspase-8 and caspase-3 in rabbit surgery-induced model of knee osteoarthritis[J]. *Rheumatol Int*, 2012, 32(3):759—766.
- [52] 卫荣,迪丽娜尔·马合木提,胡汉华.维医沙疗对兔膝关节关节炎关节软骨中 Caspase-3、Bcl-2、Bax 及凋亡蛋白表达的影响[J].*中国中西医结合杂志*,2012,32(6):801—805.
- [53] Xia L, Luo QL, Lin HD, et al. The effect of different treatment time of millimeter wave on chondrocyte apoptosis, caspase-3, caspase-8, and MMP-13 expression in rabbit surgically induced model of knee osteoarthritis[J]. *Rheumatol Int*, 2012, 32(9):2847—2856.