

不同动物膝骨关节炎造模和模型病理学评估的研究进展

张驰 王朴 刘遑 雒晓甜 何成奇

膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是机械性和生物性因素相互作用的结果,是一种以关节软骨细胞、细胞外基质和软骨下骨合成与降解失衡、关节滑膜反应、骨赘形成等病理变化为特征的慢性疾病。近年来关于 KOA 动物模型制作的研究较多,也取得了一定进展^[1]。本研究对近 5 年采用不同动物制作 KOA 动物模型的基础研究进行综述,旨在为今后 KOA 造模提供参考和实验依据。

国外文献通过检索 CINTRAL(Cochrane library)、Embase(via Ovid)、Medline(via Ovid)、CBM 数据库中 2010 年 1 月至 2014 年 8 月间有关 KOA 动物模型的文章,检索词为“animal model、knee osteoarthritis、rabbit、rats、mice、guinea pig、goats、sheep、dogs、horse”。国内文献检索相同时间内中国期刊全文数据库 KOA 动物模型相关文章,检索词为“KOA、动物模型、兔、狗、大鼠、小鼠、豚鼠、羊、狗、马”,限定语言种类为中文。纳入标准:①2010 年 1 月至 2014 年 8 月间的 KOA 动物实验;②实验评估方案中涉及骨关节软骨、软骨下骨、半月板、关节滑膜、骨赘病理变化的评估;③骨关节炎(osteoarthritis, OA)动物模型的制作与观察为文献主要研究目的;④对比评估不同动物和(或)不同造模方式的研究类文章,包括论点论据可靠有力的原创性综述文章。排除标准:①低质量重复实验研究;②实验设计不合理与实验参数交待不清的研究;③观点模糊的文献综述。3 人独立检索后,文献质量评估按照 2010 年发表的《animals research: reporting in vivo experiences; the ARRIV guidelines》^[1]文献质量评估指南进行评估,通过讨论与投票解决分歧。共收集到符合标准的文献 40 篇,其中 2010 年国际 OA 研究协会(Osteoarthritis Research Society International, OARSI)发表综述文章 7 篇,文章对不同动物 KOA 模型制作给出了具体建议,其特点如下。

兔 KOA 模型

近 5 年来实验动物制作 KOA 模型中,兔为使用最多的动物。兔膝关节与人膝关节结构相似性较高,股骨与胫骨上方有髌韧带和髌骨,两者间有半月板附着。骨关节肌肉系统发育成熟兔是理想的 KOA 造模动物,12 周龄的新西兰大白兔是使用最多的实验兔^[2-4]。由于尚不能确定雌激素是否对 KOA 存在影响,故多采用雄性兔作为实验动物。OARSI 指出,由于存在喂养方式及激素水平不同等问题,雄性兔较雌性兔更适合用于造模,且不同批次的兔可能具有不同的基因背景,会在软骨病理变化上表现出差异,此外,兔笼的大小会影响兔造模腿的活动范围,从而影响造模^[5]。

目前造模方式主要有:①外科手术造模——前交叉韧带切断术(anterior cruciate ligament transection, ACLT)、后交叉韧带切断术、半月板切除术、内侧副韧带切断术(medial collateral ligament, MCL)、髌骨切除术、综合手术方法。兔 ACLT 制作 KOA 模型最能模拟人 KOA 软骨、滑膜、骨病理变化过程,且该模型的软骨病理变化范围较其他手术方式更大,适宜针对软骨进行干预的研究;ACLT 模型的病理进展主要为早期关节软骨厚度增加,滑膜积液,滑膜炎,4 周后发生软骨侵蚀,8 周后股骨髌软骨发生全层破坏。有研究发现早在术后 2 周就观察到骨赘形成^[5];②机械外力造模——膝关节固定、膝关节持续负重;③化学因子诱导——白介素-1 β 、碘乙酸、纤维连接蛋白片段等关节腔内注射。其中 ACLT 是近年来研究者在造模中使用最多的方法,有研究发现 ACLT 后 4 周就开始发生关节软骨细胞破坏,充分证明了该方法的有效性^[6]。

兔 KOA 模型评估:①软骨改变——对其关节大体形态评估时需进行染色,以区分各组织结构。印度墨能被软骨所吸附,在肉眼观察时能清楚显示软骨破坏情况。Outerbridge 分级方式是使用最广泛的印度墨染色半定量评估方法,但 OARSI 认为印度墨本身为惰性溶剂,可能会对免疫组织化学及分子生物学结果产生干扰,OARSI 推荐以软骨裂缝长度为基准对软骨破坏情况进行分级^[5]。其它定量评估如三维定量测定系统等技术虽然更为准确,但由于费时、设备与技术人员操作技能要求高等原因,在研究中较少使用。组织病理学评估较常采用 markin 评分^[7]的半定量评估;②关节滑膜病理变化——对于关节滑膜改变,OARSI 建议在 KOA 早期使用具体评估参数,评估涉及滑膜细胞增生、炎症细胞浸润、滑膜纤维化等 11 个方面的特征性变化。由于 ACLT 本身导致的关节炎症改变可能对最终 KOA 的关节滑液测量结果造成影响,所以在评估中必须考虑该造模方式对测量结果的影响。对于关节滑膜病理变化的观察,Lugo^[8]采用了高像素的图像分析系统观察滑膜厚度变化。关节积液的评估较为困难,问题主要在于测量方法的准确性难以保证;③软骨下骨改变——该结构在兔 KOA 模型中表现较明显,能反映 KOA 早期的病理变化。有研究发现,软骨下骨在 KOA 早期会出现血管增生性改变,到 KOA 后期该变化又会减弱,4~8 周时软骨下骨矿物质含量减少,12 周后增至正常^[4];④骨赘形成——骨赘是兔 KOA 的典型特征。OARSI 指出,骨赘形成及严重程度是否与关节软骨病变之间存在相关性尚存在争议,对其重视程度也未形成共识^[5]。⑤半月板改变——造模后 4 周出现半月板撕裂,8 周后可以观察到半月板严重撕裂。

小鼠 KOA 模型

在实验中使用较多的是 8~10 月龄的小鼠,其能表现出典型的 KOA 软骨病理变化^[9-12]。小鼠膝关节小、软骨层薄,目前手术造模使用较多的为交叉韧带切断术^[13]、MCL^[9]等术式。研

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2016.10.023

作者单位:610041 成都,四川大学华西医院康复医学中心;康复医学四川省重点实验室

通信作者:何成奇,Email:hxfhcq@126.com

究所用小鼠品系较多,C57 黑鼠是被报道较早的自发性 KOA 模型,也是研究中使用较多的一种,该种类鼠基因组已被测序^[12,14]。

小鼠 KOA 模型评估:①软骨改变——小鼠 KOA 软骨病理变化特点与人 KOA 在软骨聚糖丢失、关节软骨改变方面相似度高。小鼠的膝关节小,肉眼观察其软骨组织形态学变化难度较大。将计算机形态学评估系统与显微镜连接,观察软骨切片,发现小鼠的软骨细胞层较薄,只有几层软骨细胞组成,约 30 μm 厚,能快速发生整个软骨层的纤维化^[10]。由于小鼠关节较小,外源性造模容易对 KOA 模型造成影响,因此 OARSI 建议保留完整的膝关节^[15]。Weng 等^[12]按照 OARSI 的建议将关节标本使用 4% 多聚甲醛固定、脱钙后进行石蜡包埋,随后进行矢状面和冠状面切片,小鼠膝关节切片难度较大,切片方式也需根据实验目的进行选择,目前选择冠状面切片的研究较多。小鼠软骨细胞层较薄,不易明确区分其病理变化各个时期,导致软骨评分系统信度与效度较低。OARSI^[15]推荐使用半定量评分方式,此种方法是对关节进行整体评价,需通过附加的关节滑膜、骨、蛋白多糖等方面的评估对总体评分进行充实。②其他关节组织病理变化——关节滑膜病理变化不是小鼠 KOA 的典型特征,因此有关滑膜改变的研究,不建议选择小鼠制作 KOA 模型。有研究采用番红 O 染色和 Fast-green 染色进行组织化学观察,发现这种评估方式主观性较强,用于小鼠的评估效率则更差^[14]。

大鼠 KOA 模型

Sprague-Dawley (SD) 大鼠和 Wistar 大鼠近年来使用较多^[16-17],12 周以上的成年雄性大鼠造模效果较好,采用大鼠体重多在 150~300 g。造模方式中,由于大鼠较少发生自发性 KOA,手术造模如内侧半月板撕裂术 (medial meniscal tear, MMT)、ACLT、MMT + ACLT 仍然是目前使用最为广泛的方式^[18]。为增加造模效果,研究者常常加上膝关节固定,以限制活动或高强度的膝关节冲击运动。经手术创建的 KOA 模型能造成大鼠膝关节局部和全层软骨缺损,主要用于基因治疗、干细胞移植、人工关节移植以及局部生长因子治疗^[18]。碘酸盐关节腔注射也常用于造模,这种模型可由化学物质导致的软骨细胞死亡引起关节炎症改变、软骨破坏及软骨下骨病理改变,但该病理变化并不能模拟人 KOA 病理变化过程。卵巢切除大鼠常用于制作绝经后 KOA 模型,但该模型关节病理变化轻微,不足以模仿人 KOA 病理进程。

内侧半月板撕裂术模型关节退变较快,术后 3~6 周软骨发生退行性变,内侧胫骨的外 1/3 软骨退变最严重,随之关节软骨细胞与蛋白聚糖丢失、纤维化,骨赘形成。该模型不仅能评估软骨保护与修复的效果,还能反映软骨下骨吸收与骨硬化的程度。前交叉韧带切断模型在关节退变方面慢于内侧半月板撕裂术模型,通常在造模 4~12 周后出现软骨破坏,但很难在 12 周后看到软骨进行性破坏。

大鼠 KOA 模型评估:对于小鼠而言,大鼠的软骨厚度足以诱导部分及全层软骨缺损的 KOA 模型,因此大鼠多用于软骨修复方面的研究。宏观组织形态学评估^[18]不建议使用 MMT 和 (或) ACLT 造模后切开关节评估形态学变化,因其可能影响股骨、胫骨、关节滑膜三维结构关系,同时也会影响对关节囊纤维化修复、滑膜病理变化的评估。大鼠关节软骨基质变化主要表

现为软骨基质的丢失、软骨表面纤维化及关节全层的破坏,根据软骨基质破坏的深度可判断其严重程度^[16]。

羊 KOA 模型

用于 KOA 模型制作的羊包括绵羊与山羊两个品种,其膝关节与人类相似度很高,较人类多了 1 条位于关节前外侧部的长伸肌腱。由于该肌腱的存在,在胫骨平台外侧多了 1 个容纳该肌腱的凹槽,实验观察时需注意该凹槽的影响。OARSI 指出^[19]:羊关节体积较大,利于关节穿刺、关节液收集、影像学观察、步态分析关节镜检查等;羊性情温和,实验动物管理更容易,但羊是单胃反刍动物,药物试验需考虑此因素;山羊与绵羊相比,关节软骨层更厚,更有利于观察软骨修复的研究。研究中多使用 4 年左右的羊,推荐年龄 > 2 岁、骨骼肌肉系统发育成熟的羊^[20-23]。造模中 Suffolk 杂交品种^[20,22]和 Merino^[21,23]两个品种的羊使用较多。山羊易受慢病毒感染,导致关节滑膜炎和关节退变,目前少见自发模型的文献报道,无论绵羊还是山羊,外科手术造模仍是主导的造模方式,其中 ACLT 和 MCL 最为常用。山羊的关节软骨比绵羊更厚,与人类的膝关节软骨更为相似。

有研究对羊膝关节大体形态学进行了详细的评估,软骨评估采用改良 Drez 评分,骨赘评估采用改良 Cummings 评分,半月板评估采用 Hellio La Graverand 评分^[20]。微观病理组织学评估研究中,虽然 Mankin 评分对半月板、关节滑膜、韧带、骨的评估能力较弱,但对于软骨病理变化仍然是较为公认的评分系统^[24-26]。

其他

近五年来,以下动物在 KOA 的研究中使用相对较少。

一、豚鼠

由于雄性豚鼠体重增加快,对关节的负荷较重,故在豚鼠 KOA 模型制作中雄性 Hartly 豚鼠使用较多^[27-28]。豚鼠膝关节内侧压力较大,容易形成 KOA 自发模型,能模拟人 KOA 的病理特点。自发模型与人 KOA 的相似性还体现在与年龄、肥胖的相关性上,一部分能体现人 KOA 病理进程的生物学标志物同样能在豚鼠上获得。研究多采用 2 月龄至 18 或 24 月龄的豚鼠进行实验^[28-29]。有综述指出,对豚鼠进行大体形态学观察主要采用印度墨染色和^[30] Outerbridge 半定量评分,进行关节软骨组织病理学观察常使用甲苯胺蓝染色,石蜡包埋,并进行冠状切片。近年来关节软骨免疫组化观察指标主要有白介素-2、单克隆抗体 9A4 与 TG2^[31]。

二、狗

狗与人类在膝关节结构和功能上相似度较高,有髌骨、股骨、胫骨、髌下脂肪垫、半月板。利用狗膝关节 ACLT 制作的自发 KOA 模型在半月板病变、骨质软化以及创伤形成方面与人的病理变化相似,这是该模型的主要优势。目前使用的狗品系较多,但研究均使用骨骼系统发育成熟的狗。近年来,研究中狗的重量约 25 kg 左右,2~4 年龄的杂交狗使用较多^[32-34]。造模方式有 ACLT、半月板切除、ACLT+半月板切除、关节制动等方法,其中 ACLT 仍是制作 KOA 模型使用较多的方式^[35]。有研究采用从内侧切开关节,交叉缝合外侧阔筋膜、髌骨与胫骨前方的韧

带等一系列复杂的外科手术方式造成膝关节脱位,最后有效制作狗 KOA 模型^[36]。OARSI 建议在研究中每个实验组狗的数量不少于 8 只,软骨定量宏观得分采用墨汁染色和表面面积计算法^[37]。

三、马

近五年来使用马制作 KOA 的研究较少。马自发型 KOA 较为常见,主要发生于比赛用马和老年马中,其掌指关节容易出现自发 KOA 模型^[38-40]。单纯前交叉韧带切断不易观察到典型的 KOA 病理变化过程,因此 ACLT 是否能成功制作马 KOA 模型尚不能确定,其造模最常用的方法是破坏关节软骨后,给予高强度运动^[41]。

小结

综上所述,在 KOA 发病机制和治疗方法的基础研究中,常用于造模的动物有兔、大鼠、小鼠、豚鼠、羊、狗、马。不同动物模型在关节软骨、软骨下骨、关节滑膜等方面的病理变化存在差异,且不同造模方式也会导致组织形态学、病理学方面的不同,实验研究中需根据研究目的选择实验动物,并进行具体造模方式的考量。

参 考 文 献

- [1] NC3Rs Reporting Guidelines Working Group. Animal research: reporting in vivo experiments: the ARRIVE guidelines[J]. *J Physiol*, 2010, 588(14): 2519-2521. DOI: 10.1113/jphysiol.2010.192278.
- [2] Kyrkos MJ, Papavasiliou KA, Kenanidis E, et al. Calcitonin delays the progress of early-stage mechanically induced osteoarthritis. In vivo, prospective study[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(7): 973-980. DOI: 10.1016/j.joca.2013.03.011.
- [3] Arunakul M, Tochigi Y, Goetz JE, et al. Replication of chronic abnormal cartilage loading by medial meniscus destabilization for modeling osteoarthritis in the rabbit knee in vivo[J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(10): 1555-1560. DOI: 10.1002/jor.22393.
- [4] Saito M, Sasho T, Yamaguchi S, et al. Angiogenic activity of subchondral bone during the progression of osteoarthritis in a rabbit anterior cruciate ligament transection model[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2012, 20(12): 1574-1582. DOI: 10.1016/j.joca.2012.08.023.
- [5] Laverty S, Girard CA, Williams JM, et al. The OARSI histopathology initiative-recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rabbit[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(3): 53-65. DOI: 10.1016/j.joca.2010.05.029.
- [6] Turunen SM, Han SK, Herzog W, et al. Cell deformation behavior in mechanically loaded rabbit articular cartilage 4 weeks after anterior cruciate ligament transection[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(3): 505-513. DOI: 10.1016/j.joca.2012.12.001. Epub 2012 Dec 26.
- [7] Labusca L, Mashayekhi K. The role of progenitor cells in osteoarthritis development and progression[J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2015, 10(2): 90-98.
- [8] Lugo L, Villalvilla A, Gómez R, et al. Effects of PTH [1-34] on synovitis in an experimental model of osteoarthritis preceded by osteoporosis[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2012, 20(12): 1619-1630. DOI: 10.1016/j.joca.2012.08.010.
- [9] Matsuzaki T, Matsushita T, Takayama K, et al. Disruption of Sirt1 in chondrocytes causes accelerated progression of osteoarthritis under mechanical stress and during ageing in mice[J]. *Ann Rheum Dis*, 2014, 73(7): 1397-1404. DOI: 10.1136/annrheumdis-2012-202620.
- [10] Ludin A, Sela JJ, Schroeder A, et al. Injection of vascular endothelial growth factor into knee joints induces osteoarthritis in mice[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(3): 491-497. DOI: 10.1016/j.joca.2012.12.003.
- [11] Valverde-Franco G, Pelletier JP, Fahmi H, et al. In vivo bone-specific EphB4 overexpression in mice protects both subchondral bone and cartilage during osteoarthritis[J]. *Arthritis Rheumatism*, 2012, 64(11): 3614-3625. DOI: 10.1002/art.34638.
- [12] Weng T, Yi L, Huang J, et al. Genetic inhibition of fibroblast growth factor receptor 1 in knee cartilage attenuates the degeneration of articular cartilage in adult mice[J]. *Arthritis Rheumatism*, 2012, 64(12): 3982-3992. DOI: 10.1002/art.34645.
- [13] Ruan MZ, Patel RM, Dawson BC, et al. Pain, motor and gait assessment of murine osteoarthritis in a cruciate ligament transection model[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(9): 1355-1364. DOI: 10.1016/j.joca.2013.06.016.
- [14] Akagi R, Sasho T, Saito M, et al. Effective knock down of matrix metalloproteinase-13 by an intra-articular injection of small interfering RNA (siRNA) in a murine surgically-induced osteoarthritis model[J]. *J Orthopaedic Res*, 2014, 32(9): 1175-1180. DOI: 10.1002/jor.22654.
- [15] Glasson SS, Chambers MG, Van Den Berg WB, et al. The OARSI histopathology initiative - recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the mouse[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(3): 17-23. DOI: 10.1016/j.joca.2010.05.025.
- [16] Bianchi E, Di Cesare Mannelli L, Menicacci C, et al. Prophylactic role of acetyl-L-carnitine on knee lesions and associated pain in a rat model of osteoarthritis[J]. *Life Sci*, 2014, 106(1-2): 32-39. DOI: 10.1016/j.lfs.2014.04.022.
- [17] Wen ZH, Tang CC, Chang YC, et al. Intra-articular injection of the selective cyclooxygenase-2 inhibitor meloxicam (Mobic) reduces experimental osteoarthritis and nociception in rats[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(12): 1976-1986. DOI: 10.1016/j.joca.2013.09.005.
- [18] Gerwin N, Bendele AM, Glasson S, et al. The OARSI histopathology initiative-recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the rat[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(3): 24-34. DOI: 10.1016/j.joca.2010.05.030.
- [19] Little CB, Smith MM, Cake MA, et al. The OARSI histopathology initiative-recommendations for histological assessments of osteoarthritis in sheep and goats[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(3): 80-92. DOI: 10.1016/j.joca.2010.04.016.
- [20] O'Brien EJ, Beveridge JE, Huebner KD, et al. Osteoarthritis develops in the operated joint of an ovine model following ACL reconstruction with immediate anatomic reattachment of the native ACL[J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(1): 35-43. DOI: 10.1002/jor.22187.
- [21] Cake MA, Read RA, Corfield G, et al. Comparison of gait and pathology outcomes of three meniscal procedures for induction of knee osteoarthritis in sheep[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(1): 226-236. DOI: 10.1016/j.joca.2012.10.001.
- [22] Barton KI, Ludwig TE, Achari Y, et al. Characterization of proteoglycan 4 and hyaluronan composition and lubrication function of ovine synovial fluid following knee surgery[J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(10): 1549-1554. DOI: 10.1002/jor.22399.
- [23] Chan BY, Fuller ES, Russell AK, et al. Increased chondrocyte sclerostin

- may protect against cartilage degradation in osteoarthritis[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2011, 19(7): 874-885. DOI: 10.1016/j.joca.2011.04.014.
- [24] Frank CB, Beveridge JE, Huebner KD, et al. Complete ACL/MCL deficiency induces variable degrees of instability in sheep with specific kinematic abnormalities correlating with degrees of early osteoarthritis [J]. *J Orthop Res*, 2012, 30(3): 384-392. DOI: 10.1002/jor.21549.
- [25] Holland JC, Brennan O, Kennedy OD, et al. Examination of osteoarthritis and subchondral bone alterations within the stifle joint of an ovariectomized ovine model [J]. *J Anat*, 2013, 222(6): 588-597. DOI: 10.1111/joa.12051.
- [26] Moody HR, Heard BJ, Frank CB, et al. Investigating the potential value of individual parameters of histological grading systems in a sheep model of cartilage damage: the Modified Mankin method [J]. *J Anat*, 2012, 221(1): 47-54. DOI: 10.1111/j.1469-7580.2012.01513.x.
- [27] Lingaraj K, Poh CK, Wang W. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is expressed during articular cartilage growth and re-expressed in osteoarthritis [J]. *Ann Acad Med Singapore*, 2010, 39(5): 399-403.
- [28] Santangelo KS, Pieczarka EM, Nuovo GJ, et al. Temporal expression and tissue distribution of interleukin-1 β in two strains of guinea pigs with varying propensity for spontaneous knee osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2011, 19(4): 439-448. DOI: 10.1016/j.joca.2011.01.004.
- [29] Huebner JL, Williams JM, Deberg M, et al. Collagen fibril disruption occurs early in primary guinea pig knee osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(3): 397-405. DOI: 10.1016/j.joca.2009.09.011.
- [30] Kraus VB, Huebner JL, DeGroot J, et al. The OARSI histopathology initiative-recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the guinea pig [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(3): 35-52. DOI: 10.1016/j.joca.2010.04.015.
- [31] Huebner JL, Johnson KA, Kraus VB, et al. Transglutaminase 2 is a marker of chondrocyte hypertrophy and osteoarthritis severity in the Hartley guinea pig model of knee OA [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2009, 17(8): 1056-1064. DOI: 10.1016/j.joca.2009.02.015.
- [32] Kuroki K, Cook CR, Cook JL. Subchondral bone changes in three different canine models of osteoarthritis [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2011, 19(9): 1142-1149. DOI: 10.1016/j.joca.2011.06.007.
- [33] Moreau M, Riialand P, Pelletier JP, et al. Tiludronate treatment im-
- proves structural changes and symptoms of osteoarthritis in the canine anterior cruciate ligament model [J]. *Arthritis Res Ther*, 2011, 13(3): 98. DOI: 10.1186/ar3373.
- [34] Intema F, Hazewinkel HA, Gouwens D, et al. In early OA, thinning of the subchondral plate is directly related to cartilage damage: results from a canine ACLT-meniscectomy model [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(5): 691-698. DOI: 10.1016/j.joca.2010.01.004.
- [35] Chockalingam PS, Glasson SS, Lohmander LS. Tenascin-C levels in synovial fluid are elevated after injury to the human and canine joint and correlate with markers of inflammation and matrix degradation [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(2): 339-345. DOI: 10.1016/j.joca.2012.10.016.
- [36] Nganvongpanit K, Boonsri B, Sripratak T, et al. Effects of one-time and two-time intra-articular injection of hyaluronic acid sodium salt after joint surgery in dogs [J]. *J Vet Sci*, 2013, 14(2): 215-222. DOI: 10.4142/jvs.2013.14.2.215.
- [37] Cook JL, Kuroki K, Visco D, et al. The OARSI histopathology initiative-recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the dog [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(3): 66-79. DOI: 10.1016/j.joca.2010.04.017.
- [38] McNulty AL, Rothfusz NE, Leddy HA, et al. Synovial fluid concentrations and relative potency of interleukin-1 alpha and beta in cartilage and meniscus degradation [J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(7): 1039-1045. DOI: 10.1002/jor.22334.
- [39] Ashwell MS, Gonda MG, Gray K, et al. Changes in chondrocyte gene expression following in vitro impaction of porcine articular cartilage in an impact injury model [J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(3): 385-391. DOI: 10.1002/jor.22239.
- [40] van der Harst M, Bull S, Brama PA, et al. Nitrite and nitrotyrosine concentrations in articular cartilage, subchondral bone, and trabecular bone of normal juvenile, normal adult, and osteoarthritic adult equine metacarpophalangeal joints [J]. *J Rheumatol*, 2006, 33(8): 1662-1667.
- [41] McIlwraith CW, Frisbie DD, Kawcak CE, et al. The OARSI histopathology initiative-recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the horse [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(3): 93-105. DOI: 10.1016/j.joca.2010.05.031.

(修回日期:2016-08-27)

(本文编辑:凌琛)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对基金项目的有关要求

论文所涉及的课题若获得国家或部、省级以上基金资助或属攻关项目,请以中英文双语形式脚注于文题页左下方,如“基金项目:国家重点基础研究发展计划(973计划)(2013CB532002);国家自然科学基金(30271269);Fund program:National Key Basic Research Program of China(973 Program)(2013CB532002);National Natural Science Foundation of China(30271269)”,并请附基金证书复印件。论文刊登后获奖者,请及时通知编辑部,并附获奖证书复印件。