

- hyperacute ischemic stroke: impact on prevalence and severity of early hemorrhagic transformation after thrombolytic treatment [J]. *Am J Roentgenol*, 2006, 186(5): 1443 – 1449
- 12 李春瑶, 司味鑫, 赵越, 等. 血清胆碱酯酶水平与急性脑梗死病情严重程度及预后的相关性[J]. *中国医科大学学报*, 2016, 45(5): 417 – 421
- 13 罗何婷, 董玮, 鹿晓君, 等. SWI 对急性脑梗死并发脑微出血的诊断价值研究[J]. *中国 CT 和 MRI 杂志*, 2016, 14(10): 11 – 13
- 14 陈莉, 秦新月. 磁敏感成像在检测缺血性脑卒中出血性转化中的应用[J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(23): 6757 – 6758
- 15 Von Kummer R, Broderick JP, Campbell BCV, *et al.* The heidelberg bleeding classification classification of bleeding events after ischemic stroke and reperfusion therapy[J]. *Stroke*, 2015, 46(10): 2981 – 2986
- 16 Reeves MJ, Smith EE, Fonarow G, *et al.* Abstract W P335: variation and trends in the documentation of National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) among GWTG – Stroke Hospitals[J]. *Stroke*, 2014, 45(1): 335
- 17 Chaisinanunkul N, Adeoye O, Lewis RJ, *et al.* Adopting a patient – centered approach to primary outcome analysis of acute stroke trials using a utility – weighted modified Rankin scale[J]. *Stroke*, 2015, 46(8): 2238 – 2243
- 18 张斌, 张淑玲, 付胜奇, 等. 急性脑梗死合并脑微出血的危险因素分析[J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2016, 19(14): 67 – 69
- 19 Song TJ, Kim J, Song D, *et al.* Association of cerebral microbleeds with mortality in stroke patients having atrial fibrillation[J]. *Neurology*, 2014, 83(15): 1308 – 1315
- 20 汪国宏, 吴竹青, 王小强, 等. 脑微出血的危险因素及其对认知功能影响的临床研究[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2014, 16(7): 736 – 739 (收稿日期: 2016 – 12 – 12) (修回日期: 2017 – 02 – 23)

力学刺激对软骨细胞细胞骨架的影响

李雄峰 施林枫 周国顺 吴 猛 蒋雪生

摘 要 目的 探讨不同应力刺激下软骨细胞细胞骨架的荧光强度和形态分布的变化。**方法** 取新西兰兔关节软骨细胞, 分离传代增殖然后将第 3 代软骨细胞分别给以 3 组不同的动态 (1Hz, 500 μ ε 1000 μ ε 1500 μ ε) 和静态 (0Hz, 500 μ ε 1000 μ ε 1500 μ ε) 力学刺激分组培养, 然后行细胞骨架肌动蛋白 (actin)、中间丝波形蛋白 (vimentin)、微管 (tubulin) 的免疫荧光染色, 吸光法对标本进行测定, 分析荧光强度和细胞骨架分布的变化。**结果** 软骨细胞在未受到应力刺激时其分布相对分散并显示比较均匀, 在力学刺激后, 细胞骨架发生的排列和强度均发生了变化。vimentin 在动态的力学刺激下荧光强度逐渐增强, Actin 先减弱后逐步增强, 而 Tublin 是先增强在减弱再增强。vimentin、actin 和 tublin 的荧光强度在静态的力学刺激下有明显的一致性的变化, 随压力的增加其强度明显的下降, 其排列疏松变化明显。**结论** 在力学刺激下, 细胞骨架发生的明显的变化, 而在各种变化中, 其变化和力学刺激的大小和时间刺激的方式有关系。

关键词 力学 软骨细胞 细胞骨架

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.10.044

Changes of Chondrocyte Cytoskeleton by Mechanical Stimuli in Vitro. Li Xiongfeng, Shi Linfeng, Zhou Guoshun, *et al.* Huzhou Central Hospital of Zhejiang Province, Zhejiang 313000, China

Abstract Objective To Explore the Changes of Chondrocyte Cytoskeleton by Dynamic and Static Mechanical Stimuli in Vitro. **Methods** Chondrocytes derived from healthy New Zealand rabbits, then the protocols (1Hz, 500 μ ε 1000 μ ε 1500 μ ε and 0Hz, 500 μ ε 1000 μ ε 1500 μ ε) were applied 6 hours every day for 3 days, Immunofluorescence was employed to directly observe the organization of the cytoskeleton. Morphological remodeling of the cytoskeleton was visualized by fluorescence microscope. Fluorescence intensity of chondrocytes were recorded by densitometry. The dynamic and static remodeling of during the mechanical protocols was observed morphologically and mechanically by fluorescence microscope and Fluorescence analysis respectively. **Results** The variations in both the morphology and the mechanical property actin were highly synchronous to vimentin. It's fluorescence became stronger after dynamic mechanical stimuli at first and became weakness again, but it's continuing weaken under static mechanical stimuli. The fibers of actin and vimentin became

基金项目: 浙江省卫生和计划生育委员会骨干人才基金资助项目 (2014RCA028); 湖州市自然科学基金资助项目 (2013YZB01)

作者单位: 313000 湖州市中心医院 (浙江大学湖州医院) 骨科

通讯作者: 蒋雪生, 主任医师, 电子信箱: lyfwind@126.com

thin, sparse, and disordered, and the cell stiffness decreased concomitantly. The variations in both the morphology and the mechanical property both were highly synchronous to the mechanical stimuli in a time – dependent manner. **Conclusion** Mechanical stimuli on chondrocytes has been discovered and defined in this study. The chondrocyte cytoskeleton changed by mechanical stimuli. Meanwhile it's related the time and different forces.

Key words Mechanical;Chondrocyte;Cytoskeleton

骨关节炎是软骨细胞凋亡使软骨退变缺损导致的关节疾病,最常见于膝关节,其原因和下肢力线改变后软骨细胞受到异常应力相关。体外培养的软骨细胞在力学刺激作用下,通过各种应答蛋白的变化有效识别生物力学信号,其中细胞骨架蛋白的变化尤为明显。细胞骨架主要功能是维持细胞形态学的稳定,是存在细胞体内的一种复杂的由蛋白质构成的网状结构,包括 3 种结构基础:肌动蛋白(actin)、中间丝波形蛋白(vimentin)、微管(tubulin)等。在力学刺激下,细胞骨架表现为一种动态的变化,其在细胞内的分布与应力作用密切相关。在外力作用下,细胞骨架以张力整合模式来识别传递力学信号,通过这种方式可以直接并迅速的产生反应^[1]。软骨细胞内存在复杂机械传导结构,包括胞膜相关转导分子,可被 PKA/CREB – Sox9 通路放大的下调蛋白,机械感应结构、细胞骨架以及细胞骨架调节蛋白等^[2]。因此,软骨细胞的细胞骨架变化值得研究,这些蛋白在不同时间和不同应力作用下的变化有助于了解细胞骨架作用和功能。

材料与方法

1. 实验仪器和试剂:荧光显微镜德国产徕卡显微镜,一抗(鼠抗),β – actin、β – tubulin、vimentin (武汉博士德公司),二抗 FITC – 羊抗小鼠 IgG (武汉博士德公司),CY3 – 羊抗小鼠 Ig (美国 Sigma 公司)。4 点弯曲应力加载装置(军事医学科学院卫生装备研究所张西正教授提供)。
2. 软骨的获取:健康的 4 周龄新西兰大白兔 4 只,体重 2.0 ~ 2.5kg,由浙江大学医学实验动物中心提供。苯巴比妥钠麻醉后耳缘静脉空气注射法迅速处死,去除皮毛后用大剪刀将整个髌关节、膝关节、肘关节、肩关节连同软组织完整切取(必须保证关解囊完整),放入 75% 乙醇内浸泡 5 ~ 10min,在细胞培养室的超净工作台上将关节周围软组织去除,暴露关节腔,切取关节软骨。
3. 软骨细胞的分离、传代培养:实验将收集的软骨组织放入盛有 PBS 的培养皿中反复漂洗 3 次,将剪碎成 0.5 ~ 1.0mm 左右的组织块,移入 25cm² 培养

皿中,用含 100U/ml 青霉素和 100mg/ml 链霉素的 PBS 冲洗 3 次。加入软骨体积 10 ~ 15 倍的 0.25% 胰酶,37℃ 消化 0.5 ~ 1.0h 后终止消化,再加入 0.2% II 型胶原酶,37℃ 消化 4 ~ 6h,在倒置显微镜下观察,当游离出单个细胞后,加入含 10% 小牛血清的 DMEM 培养液将 II 型胶原酶稀释终止消化并反复吹打。将细胞团吹打成单个细胞后用 200 目滤网过滤,收集滤液,1500r/min 离心 5min,弃上清,加入 PBS 液,0.25% 台盼蓝染色,活细胞率大于 90% 则进行传代培养。将原代软骨细胞分别以 5 × 10⁵/cm³ 高密度接种在 50ml 的细胞培养瓶中和 96 孔细胞板中,当单层细胞铺满培养瓶底时用 0.25% 的胰酶加 0.02% 的 EDTA 消化,1:2 传代。

4. 力学刺激各组的大小、频率和时间:将第 3 代软骨细胞放入自制的细胞培养板中培养,当细胞出现对数生长期时更换培养基,立即将细胞板放置在 4 点弯曲应力加载装置,利用软骨细胞黏附的基底材料的形变对细胞进行力学刺激,该系统可以放置在细胞培养箱内,应变幅值从 0 ~ 2000μ ϵ ,和频率 1Hz 的力学刺激。软骨细胞力学刺激分组,每天给以 6h 的应力刺激,其中动态加压 3 组(分别用 D1/D2/D3 表示),静态加压分 3 组(S1/S2/S3 表示),具体见表 1。在停止加载后再培养 4h,观察其后效应,然后对软骨细胞进行检测。

表 1 软骨细胞力学刺激分组的大小、频率和时间

组别	大小(μ ϵ)	频率(Hz)	时间
动态压力			
D1	500	1	6h × 3 天
D2	1000	1	6h × 3 天
D3	1500	1	6h × 3 天
静态压力			
S1	500	0	6h × 3 天
S2	1000	0	6h × 3 天
S3	1500	0	6h × 3 天

5. 细胞的免疫荧光染色:①加压后细胞,立即倒去培养基,然后 PBS 清洗 5min × 2 次;②4% 多聚甲醛固定 20min;③PBS 漂洗 5min × 2 次;④1% Triton 穿

孔 15min;⑤PBS 漂洗 2 次,每次 5min;⑥2% BSA 封闭 30min;⑦加入 1% BSA 稀释的一抗(1:100),4°过夜;⑧复温 PBS 漂洗 2 次,每次 5min;⑨加入 CY3 和 FITC 标记的并用 2% BSA 稀释的二抗(1:100),于 37℃ 杂交 1h;⑩PBS 漂洗 2 次,每次 5min。荧光显微镜下观察。设空白对照,用 PBS 代替一抗,其余步骤相同。在加入荧光染色剂的整个操作过程中,注意细胞样本的避光,以防荧光抗体淬灭而影响检测结果。

6. 记录方法:将记录的免疫荧光照片,使用 Simple PCI (Version 5.2.1 Hamama Company, USA) 对本进行光密度测定,每 1 标本随机选择 10 个细胞进行检测。记录细胞骨架的平均荧光强度。选择细胞的纳入标准:细胞完整无缺损,细胞边界清晰。整个操作由同一实验员完成(注:荧光强度为单位面积的荧光颗粒数),计算细胞骨架在不同力学刺激下不同时间点的荧光强度变化。

7. 统计学方法:所有计量数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 SPSS 13.0 统计学软件,对建立数据库的数据进行统计分析,统计中采用单因素方差分析,如差异有统计学意义,再行 q 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

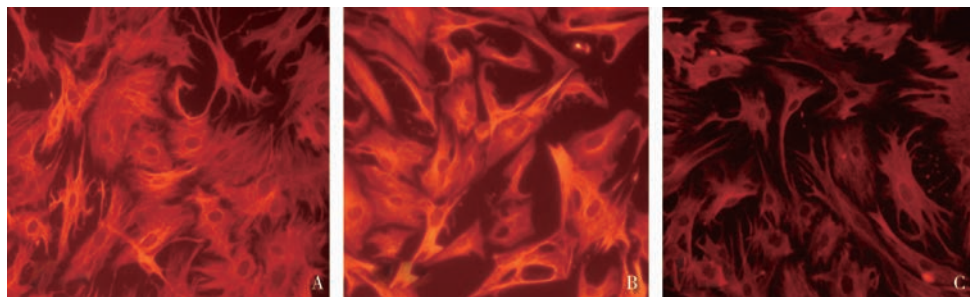


图 1 vimentin 在受到力学刺激后的变化 ($\times 200$)

A. 未受力;B. 1000 μPa 动态受压;C. 1500 μPa 静态受压

actin 的荧光强度受持续动态应力刺激后其强度在 D1 (81.43 ± 1.67)、D2 (83.17 ± 3.01) 相对未受力组 (85.55 ± 4.34) 先减弱,然后在 D3 (87.13 ± 3.67) 出现增强,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。相对于未受力组的荧光强度, S1 (79.45 ± 3.60)、S2 (75.60 ± 5.32)、S3 (73.65 ± 3.09) 差异有统计学意义 ($P < 0.05$),组间比较 D2、D3 相对于 D1, S3、S2 相对于 S1 比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。而受持续静压力刺激后,随压力的增加其强度明显的下降。细胞骨架的排列在未受到应力刺激时排列紧密均匀,受应力刺激后,其排列疏松变化明显(图 2)。

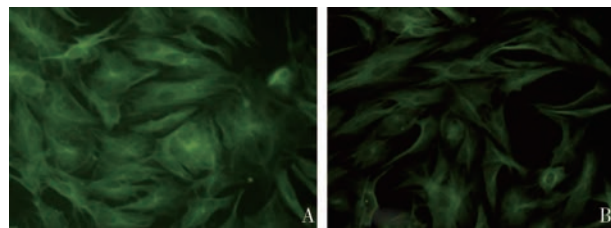


图 2 actin 在受到力学刺激后的变化 ($\times 200$)

A. 未受力;B. 1500 μPa 静态受压

结 果

免疫荧光染色给我们提供了一个可以直接观察动态观察细胞骨架变化的方法,未被染色的细胞核呈现椭圆形,可以作为对比和细胞定位。在力学刺激之前软骨细胞有典型的多边形的强而均匀的荧光形态,细胞骨架纤维成平行和均匀的分布。在软骨细胞受到静力刺激后,软骨细胞出现皱缩,细胞骨架的荧光强度也开始下降,同时出现解聚、稀疏和混乱,然而在动态的刺激下,这种现象不明显,反而出现荧光强度增强,细胞骨架排列更加有序,但在 tublin 在动态刺激上荧光强度略有不同,有向细胞核聚集的现象。

在未受应力刺激时, Vimentin 分布相对均匀,骨架丝状蛋白清晰可见(图 1A)。Vimentin 受持续动态应力刺激后 D3 (95.31 ± 4.83)、D2 (95.67 ± 1.99) 相对 D1 (90.32 ± 2.65) 和未受力组 (90.55 ± 3.77),其强度明显增加,细胞骨架排列致密(图 1B),比较有统计学意义 ($P < 0.05$)。但在持续静压力刺激后, S3 (75.67 ± 4.18)、S2 (86.69 ± 4.34)、S1 (87.45 ± 4.64) 相对未受力组荧光随压力的增加其强度逐渐下降,组内 S3 和 S2 相对 S1 比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),细胞骨架的排列在受到应力刺激时其排列疏松变化明显,荧光强度减低显著(图 1C)。

在受到应力刺激后,软骨细胞 tublin 的排列出现了相应的变化,在受动态力学刺激时,其排列比较集中,荧光强度较强,主要分布在核周围(图 3)。其荧

光强度在动态的力学刺激下 D1 (90.32 ± 2.65) 先增强, D2 (85.31 ± 4.83) 出现减弱, 在 D3 (89.67 ± 1.99) 时再出现增强, D1 和 D3 相对于未受力组 (85.55 ± 3.77) 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。而在静态的力学刺激下, S1 (84.67 ± 4.18)、S2 (80.69 ± 4.34)、S3 (75.45 ± 4.64) 出现持续的减弱。相对于未受力组的荧光强度, D1、D3、S1、S2、S3 变化均有统计学意义, 组间比较 D2、D3 相对于 D1; S2、S3 相对于 S1 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

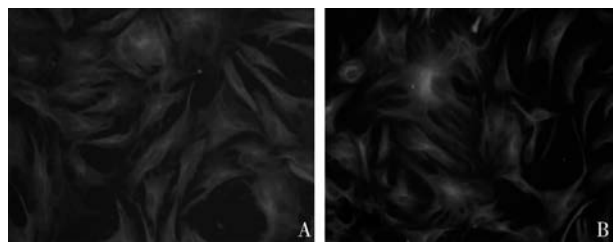


图 3 tubulin 在受到力学刺激后的变化 ($\times 200$)

A. 未受力; B. $500\mu s$ 动态应力刺激

讨 论

细胞骨架 (cytoskeleton, CSK) 是一种位于细胞核及细胞膜内侧面的纤维状蛋白质基质, 在真核细胞质内广泛存在, 是由肌动蛋白、中间丝波形蛋白、微管组成, 参与细胞活动的多种功能, 对信号转导的多个环节均有重要调节作用^[3]。软骨细胞中的 actin 和 tubulin 已经被得到广泛的研究, 但 vimentin 在软骨细胞受到力学刺激后能对各种不同的应力产生不同反应的研究相对偏少^[4]。目前的研究表明力学刺激能促进软骨细胞基质蛋白的形成, 特别是 II 型胶原^[5]。但有效的刺激可以持续多少时间, 以及切确的反应方式目前还不是很清楚。Tatsumura 等^[6]研究发现给以持续的静水压 (0.5MPa , 0.5Hz) 连续刺激 4 天, 停 3 天后再检测 II 型胶原, 发现有明显的上调, 并明显好于单用一种力学刺激。Cao 等^[7]研究发现给以软骨细胞一定力学刺激就可以增加 II 型胶原的表达并维持软骨细胞表型的稳定。

细胞骨架被认为是连接细胞核和细胞外基质的机械传导桥梁, 这个细胞骨架的通路也仅仅是刚刚被认识^[8]。它不是一个静力性结构, 总是在生物的或者机械力的作用下发生动态的改变, 报导仅仅 10min 的拉伸就可以引起肺泡上皮细胞 actin 的重新分布而改变细胞的强度^[9]。Shao 等^[10]研究发现软骨细胞中组成细胞骨架的初级纤毛是感知力学刺激的主要感应器, 如果这种纤毛断裂, 力学的刺激作用就会消失,

他们认为软骨细胞通过细胞骨架的修饰来改变软骨细胞对各种力学刺激的敏感度。

目前研究认为 actin 与跨膜蛋白相连并将力学刺激信号传递到细胞内部, 而 vimentin 在整个骨架重建中虽然处于被动地位, 但细胞骨架系统与细胞内各部分作用后能使细胞内张力维持一个稳定的状态, 是维持细胞生物学功能的内部力学环境的重要基础。研究发现在周期性的机械应力作用下, 成骨细胞骨架可以发生重排, 而软骨细胞的细胞骨架在生物力学传导过程也同样起重要作用, 并对软骨退变相关疾病的发生、发展具有重要影响, 软骨细胞细胞骨架的功能障碍是导致关节软骨退变的重要原因之一^[11,12]。力学传导对细胞的最终效应, 往往涉及整个细胞结构、各种蛋白酶激活以及相关基因表达, 是一个复杂生物化学反应过程, 而软骨细胞的细胞骨架受到力学刺激后, 也同样会发生复杂的形态学和生物化学改变, 适当的压力使细胞骨架蛋白表达增强、排列更加致密。Martin 等^[13]研究认为体外连续传代培养可使软骨细胞去分化, 但在碱性成纤维生长因子-2 (FGF-2) 作用三维培养下恢复表型, 并发现和 actin 的密度和分布密切相关。

很多研究提示细胞与基质之间相互作用可导致细胞形态学改变, 在纤维连接素上培养的软骨细胞最终会去分化为成纤维样细胞, 而微丝的完整性相对细胞形态的改变能更好的保持软骨细胞的表型的稳定性^[14]。破坏细胞肌动蛋白微丝结构可以增加 II 型胶原的表达并促进间充质细胞向软骨细胞分化, 还可以使去分化的软骨细胞重新表达 II 型胶原, 细胞的形态也从扁平的梭形变为圆形^[15,16]。李煌等^[17]在给以软骨细胞 $4000\mu\text{strain}$ 压应力刺激后发现 actin、vimentin 蛋白的表达存在一定的时效性, 表现为先下调后增强, 说明软骨细胞在力学刺激下可以通过自身反馈调节进行自我保护。胞外的应力刺激使细胞骨架的网络结构发生形变, 将力学信号转化为生物化学信号, 其中 actin 在细胞力学信号转导的过程中处于重要的核心地位^[18]。细胞骨架除了直接感受并传递力学刺激信号外, 还和不同的信号通路、离子通道之间存在交互作用, 来共同调控细胞生理功能。在对骨性关节炎软骨细胞细胞骨架的分析中提示波形蛋白、微管、链接蛋白的形态和分布发生明显的改变, 荧光定量低于正常关节的软骨细胞^[19]。在 vimentin 损伤后对体外培养的软骨细胞代谢功能的影响的研究中, 在原代细胞培养基中加入 vimentin 抑制剂丙烯酰胺, 然后检

测软骨细胞凋亡、Ⅱ型胶原、aggrecan 的 mRNA 表达,发现都明显的降低^[20]。Marie 研究发现细胞骨架除了参与信号传递和对基因表达的调节外,对 mRNA 的转移及稳定性也可能有一定的作用。

软骨细胞外在的机械力学环境对维持关节正常功能有重要的作用,除了能维持细胞外基质的稳定外,还对关节退变的启动及发展起了重要作用,虽然具体的作用机制尚不清楚,但大量研究提示细胞骨架结构和功能的改变在其中起了重要的作用。在破坏 tubulin 对软骨细胞代谢功能的影响的实验中发现,tubulin 损伤会导致Ⅱ型胶原和 aggrecan 的 mRNA 表达下调,这也是骨关节炎主要的病变特征之一。动物细胞没有细胞壁,细胞骨架充当了其功能,并对物质转运和力学的传导起重要的作用,通过膜蛋白通道释放钙离子等发挥细胞功能。

在笔者的实验研究中发现,在力学刺激下,细胞骨架发生的明显的变化,而在各种变化中,vimentin 在动态的力学刺激下荧光强度逐渐增强,actin 先减弱后逐步增强,而 tublin 是先增强再减弱再增强。aimentin、actin 和 tublin 在受持续静压力学刺激后随压力的增大而明显减少,这说明力学刺激导致细胞骨架发生变化和力学刺激的性质大小有一定的关系,不同骨架蛋白对力学刺激反应不尽相同,也间接说明不同的骨架蛋白具有不同的功能并有自我反馈调节的机制。目前的一些研究还没有完全揭示软骨细胞是怎样将机械力学刺激转化生物化学信号并发挥功能,但细胞骨架在其中起着重要作用,力学信号转导是个复杂的转化过程,涉及细胞内部结构的改变、酶激活以及基因表达的改变,细胞骨架在力学刺激后发生的复杂的形态改变导致功能的改变,而通过何种途径来维持细胞骨架稳定,从而使软骨细胞保持表型的稳定是今后的研究方向之一。

参考文献

- Ingber DE. Tensegrity II. How structural networks influence cellular information processing networks[J]. J Cell Sci, 2003, 116 (Pt8): 1397 – 1408
- Juhász T, Matta C, Somogyi C, *et al.* Mechanical loading stimulates chondrogenesis via the PKA/CREB – Sox9 and PP2A pathways in chicken micromass cultures[J]. Cell Signal, 2014, 26(3): 468 – 482
- Wang N, Tytell JD, Ingber DE. Mechanotransduction at a distance: mechanically coupling the extracellular matrix with the nucleus[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009, 10(1): 75 – 82
- Juhász T, Matta C, Somogyi C, *et al.* Mechanical loading stimulates chondrogenesis via the PKA/CREB – Sox9 and PP2A pathways in chicken micromass cultures[J]. Cell Signal, 2014, 26(3): 468 – 482
- 周国顺,李雄峰,管国华,等. 机械力学刺激对软骨细胞表型稳定性的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2011, 28(7): 1052 – 1053
- Tatsumura M, Sakane M, Ochiai N, *et al.* Off – loading of cyclic hydrostatic pressure promotes production of extracellular matrix by chondrocytes[J]. Cells Tissues Organs, 2014, 198(6): 405 – 413
- Xu Cao, Hansong Xia, Na Li, *et al.* A mechanical refractory period of chondrocytes after dynamic hydrostatic pressure[J]. Connect Tissue Res, 2015; 56(3): 212 – 218
- Wang N, Tytell JD, Ingber DE. Mechanotransduction at a distance: mechanically coupling the extracellular matrix with the nucleus[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009, 10(1): 75 – 82
- DiPaolo BC, Davidovich N, Kazanietz MG, *et al.* Rac1 pathway mediates stretch response in pulmonary alveolar epithelial cells[J]. Am J Physiol, 2013, 305(2): L141 – L153
- Shao YY, Wang L, Welter JF, *et al.* Primary cilia modulate Ihh signal transduction in response to hydrostatic loading of growth plate chondrocytes[J]. Bone, 2012, 50(1): 79 – 84
- Lozupone E, Favia A, Grimaldi A. Effect of intermittent mechanical force on bone tissue in vitro: preliminary results[J]. J Bone Mineral Res, 1992, 7(S2): S407 – S409
- Demoor M, Maneix L, Ollitrault D, *et al.* Deciphering chondrocyte behaviour in matrix – induced autologous chondrocyte implantation to undergo accurate cartilage repair with hyaline matrix[J]. Patho Biol, 2012, 60(3): 199 – 207
- Martin I, Vunjak – Novakovic G, Yang J, *et al.* Mammalian chondrocytes expanded in the presence of fibroblast growth factor 2 maintain the ability to differentiate and regenerate three – dimensional cartilaginous tissue[J]. Exp Cell Res, 1999, 253(2): 681 – 688
- Benya PD, Brown PD, Padilla SR. Microfilament modification by dihydrocytochalasin B causes retinoic acid – modulated chondrocytes to reexpress the differentiated collagen phenotype without a change in shape[J]. J Cell Biology, 1988, 106(1): 161 – 170
- Lim YB, Kang SS, Park TK, *et al.* Disruption of actin cytoskeleton induces chondrogenesis of mesenchymal cells by activating protein kinase C – α signaling[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 273(2): 609 – 613
- Gargiulo BJ, Cragg P, Richardson JB, *et al.* Phenotypic modulation of human articular chondrocytes by bistratene A[J]. Eur Cell Mater, 2002, 3: 9 – 18
- 李煌,李松,吴拓江,等. 体外周期性单轴压应力作用下大鼠髌突软骨细胞肌动蛋白和中间丝波形蛋白的早期变化研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2007 25(5): 422 – 425
- Mathur J, Hülskamp M. Microtubules and microfilaments in cell morphogenesis in higher plants[J]. Curr Biol, 2002, 12(19): R669 – R676
- 赵浩亮,李亮亮,段王平,等. 兔骨关节炎软骨细胞骨架变化的研究[J]. 中华关节外科杂志:电子版, 2010, 4(6): 41 – 44
- 王磊,郭恒段,王平,等. 细胞骨架中间纤维破坏对体外软骨细胞代谢功能的影响[J]. 中国药物与临床, 2011, 11(7): 745 – 747

(收稿日期:2016 – 10 – 25)

(修回日期:2016 – 11 – 07)