

吴强,郑倩华,蒋一璐,等. 膝骨性关节炎动物模型选择与制备的比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(5): 125-130.
Wu Q, Zheng QH, Jiang YL, et al. A comparative study of animal model selection and preparation for knee osteoarthritis [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(5): 125-130.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.05.020

膝骨性关节炎动物模型选择与制备的比较

吴 强¹, 郑倩华¹, 蒋一璐¹, 任润媛², 李 瑛^{3*}

(1. 成都中医药大学针灸推拿学院, 成都 610075; 2. 成都中医药大学基础医学院, 成都 610075;
3. 成都中医药大学研究生院, 成都 610075)

【摘要】 膝骨性关节炎(KOA)是退行性、多发性、难以治愈的疾病。KOA 动物疾病模型是研究 KOA 发病机制、治疗方法及起效机制的有效载体。目前,诱导 KOA 动物模型的方法多种多样,各有其特点和适用性,本文通过对 KOA 动物模型选择与制备方法的文献进行综述比较,结合笔者对 KOA 动物模型的研究实践,探讨实验性 KOA 动物模型的选择与制备,以期对研究 KOA 动物模型提供有效参考。

【关键词】 骨性关节炎;动物模型;实验研究

【中图分类号】 R-33 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-7856(2019) 05-0125-06

A comparative study of animal model selection and preparation for knee osteoarthritis

WU Qiang¹, ZHENG Qianhua¹, JIANG Yilu¹, REN Runyuan², LI Ying^{3*}

(1. Acupuncture and Tuina College/3rd Affiliated Hospital, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China.
2. Basic Medical College, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075. 3. Graduate Department, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075)

【Abstract】 Knee osteoarthritis (KOA) is a degenerative and intractable disease with high morbidity. Animal models of KOA provide an effective tool for studying the disease pathogenesis, potential treatments and their mechanism of action. A variety of animal models currently exist for studies of KOA, each with its own characteristics and advantages. In addition to the author's own research on animal models of this disease, this article reviews the literature on method ologies for establishing animal models of KOA. This article explores the selection criteria and method of preparing experimental KOA animal models, in order to provide an effective reference for researchers who wish to apply these models to their own work.

【Keywords】 osteoarthritis; animal model; experimental study

骨性关节炎(osteoarthritis, OA)又称退行性关节炎、增生性关节炎,多在中年以后发病,好发于负重、活动多的关节,如膝、髋、脊柱等处^[1]。其基本的病理改变为软骨破坏、软骨下骨硬化及骨赘形成。在临床上求诊的 OA 患者中,以膝关节骨性关

节炎(knee osteoarthritis, KOA)最为多见,症状多以膝关节疼痛、僵硬、活动时的骨摩擦音及膝关节肿胀变形为主,治愈困难,晚期有致残风险。研究 KOA 的发病机制、治疗方法及起效机制是预防和治疗 KOA 的重要内容,KOA 动物模型是研究 KOA 的

[基金项目] 国家自然科学基金重大项目(81590951);成都中医药大学校基金资助项目(ZRQN1796)。
[作者简介] 吴强(1988—),男,硕士研究生,方向:循证医学与针灸疗效评价。E-mail: wuqiang_ys@163.com
[通信作者] 李瑛(1964—),女,教授,博士生导师,研究方向:针灸治疗神经疾病、消化疾病及内分泌等系统疾病的机制研究。E-mail: liying@cdutcm.edu.cn

重要手段,笔者通过查阅文献,结合笔者对 KOA 动物模型的研究经历,探讨比较各类 KOA 动物模型的优缺点,以期对实验性 KOA 动物模型的选择与制备提供有效参考。

1 动物与制备方法的选择

1.1 动物选择

动物是 KOA 模型的客观载体,合理选择动物对 KOA 模型的成功制备及保证后续实验的顺利开展具有重要意义。因此,选择恰当的动物制备 KOA 模型是研究者首要考虑的问题。动物的选择应考虑以下两个层面:一是动物种属的选择;二是动物雌雄的选择。动物种属决定所选动物的发病机制、基因与人类发病机制、基因的相似性,以及动物对施加处理因素的敏感性、特异性和动物模型的稳定性、经济性等因素^[2];动物雌雄差异亦会对 OA 产生影响,如雌性动物的雌激素、卵巢状态会影响到骨代谢,因此,除特殊研究需要(如研究雌激素对 OA 的影响等)外,以选择雄性动物居多。

据文献报道,目前 KOA 模型常用的动物载体有家兔、小鼠、大鼠、豚鼠、犬、马、羊、猪等。每种动物 KOA 模型都具有各自特点和适用范畴:(1)家兔性格温顺,繁殖能力好,抗病能力强,体型适中,易于饲养和抓捕,易于给药。且家兔下肢相对较大,便于多种方法的模型制备及进行关节内操作,是 KOA 动物模型的理想载体,应用率较高;但家兔自愈能力较强,且其抗体、细胞因子等较难获得,因此在 KOA 发病进程研究、分子生物学研究、细胞生物学研究等方面应用不够理想。(2)小鼠生长期短、成熟快、繁殖力极强,性情温顺,价格低廉,饲养与管理方便,易于抓持和灌胃等操作,且其对外界刺激极为敏感。基因组测序表明小鼠与人类平均 85% 的基因序列高度一致^[3],故多用于与遗传相关的 KOA 发病机制的研究,但小鼠体型较小,下肢关节较细,不易于关节局部及关节内的操作,且小鼠关节软骨、滑膜组织量少,不利于观察研究。(3)大鼠与小鼠相似,生存与繁殖能力强,造模周期短,体型相对较大,模型反应灵敏,多应用于症状观察(如疼痛表现)和药物研究,亦多用于细胞生物学、组织工程学及 KOA 与神经系统相关性的研究。(4)豚鼠在研究 KOA 方面应用较少,多以自发性 KOA 建立模型,自发的豚鼠 KOA 模型与人 KOA 在发生机制和组织病理学上相似度极高,多用于研究 KOA 的生物标记测定以及组织水平检测。(5)犬、马、羊、猪

等大型哺乳动物在软骨厚度、病变进程及软骨损伤恢复等方面与人类更为接近,且其关节较大,易于手术等关节内操作,但大型哺乳动物饲养困难,成本高昂,且造模难度大,不易于同时获得较多样本。

1.2 制备方法

KOA 动物模型的制备方法可以分为三大类:一是自发性动物模型,即不予实验动物任何人为干预,在自然状态下等待动物发生 KOA,如 C57BL/6 小鼠、豚鼠等。自发性 KOA 模型与人在自然状态下形成的 KOA,在发病机制、病理表现和防治效果等方面最为相似,缺点是造模周期长,饲养成本较高,不易同时获得大量实验模型;二是诱发性动物模型,此法最为常用,包括物理诱发(如关节制动、负重运动)、药物诱发(关节腔药物注射)、手术诱发等实现方法,易于操作,易于控制模型的病理进程,能同时获得大量实验模型,且获得模型较为稳定;三是基因调控模型,即通过转基因技术对影响软骨细胞生成和凋亡的相关基因进行敲出,或导入外源基因,导致实验动物软骨发育不全或软骨细胞过度凋亡而发生 KOA,此法获得模型稳定,可降低操作误差的影响,且排除了手术创伤出血及炎症对滑膜、软骨生化代谢的影响;缺点是费用高昂,且其病理改变是由基因缺陷引起,能否完全模拟人 KOA 的发病机制仍然值得商榷。

此三种方法在造模周期、操作难度、模型稳定及研究偏重、实验经费等各方面差异较大,优缺点并存,应用时应灵活选择。

2 动物模型制备

2.1 兔 KOA 模型的制备

2.1.1 兔制动诱导模型

兔制动模型是以石膏绷带约 5~6 层固定兔后肢于过伸位、中间位或过屈位,一般固定 4~6 周可出现早中期 KOA 的病理表现,6~8 周可出现中晚期 KOA 的病理表现。如曾俊华等^[4]采用管型石膏过伸位固定兔膝关节 4 周、6 周、8 周后,发现兔膝关节出现不同程度关节囊变性、关节间隙变窄、软骨破坏及滑膜炎改变、骨赘形成等,成功复制出早期、中期、晚期 KOA 模型。尚平等^[5]将 6 月龄新西兰兔分成 2 组,分别行过伸位固定和过屈位固定,7 周后、13 周后分别取材验证,发现两组在两个时间段的肉眼解剖学观察、软骨病理学评分、软骨细胞凋亡指数等指标上均符合 KOA 的病变特点,且两者差异无显著性($P>0.05$),并认为过曲位固定法在操作简便性、家兔适应性、成功率等方面优于过伸位。

2.1.2 兔药物诱导模型

兔膝关节腔药物诱导可选木瓜蛋白酶、胶原蛋白酶等药物。先将兔麻醉,清理膝关节附近的毛发,严格无菌操作,将兔下肢屈曲,于髌韧带外侧凹陷处垂直进针,出现落空感后回抽无血或关节液,再将一定浓度的药物注射入关节腔。一般末次注射 2 周后即可出现 KOA 样改变。如陈达等^[6]将 0.5 mL 6% 木瓜蛋白酶生理盐水溶液注入兔膝关节腔,4 周后取材观察,见滑膜增生,软骨变薄、粗糙,镜下见软骨细胞数量减少、排列紊乱,局部见基质染色变浅及多重潮线等,符合 KOA 软骨病变特点。Hermeto 等^[7]将 2.0 mg 的 II 型胶原酶溶于 0.5 mL 无菌磷酸盐溶液 (sterile PBS),在实验的第 1 天和第 4 天两次注射进兔膝关节腔,14 周后动物实施安乐死,观察股骨内外髁发现软骨侵蚀、缺损明显,病理切片染色后显示软骨下骨以上全层软骨缺损,裂隙形成及软骨表面不规则等,提示 KOA 存在。

2.1.3 兔手术诱导模型

Hulth 法^[8]是经典的手术造模法,方法是阻断内侧副韧带、切除内侧半月板,并同时切断前后交叉韧带,此法能得到稳定的 KOA 模型。熊元等^[9]采用改良 Hulth 法复制兔 KOA 模型,方法是先将兔麻醉,取膝关节内侧入路,切开后将髌骨外侧脱位,屈曲下肢暴露并切断前交叉韧带,同时切断内侧副韧带,摘除内侧半月板,髌骨复位后缝合,术后 7 d 青霉素抗感染。8 周后获得典型的兔 KOA 模型。此法较 Hulth 法操作简单,创伤较小,且能保持膝关节部分稳定性,较符合人 KOA 的临床实际。Roman-Blas 等^[10]对实验兔实施前交叉韧带横断造模 (ACLT 法),并与关节腔注射胶原酶比较,造模 6 周后两组均出现软骨缺损等典型 KOA 样表现。

此外,除单纯手术法外,还可联合负重法^[11]、强迫运动法^[12-13]等制作 KOA 模型。如李炳辉等^[11]应用 Hulth 法对家兔造模后,每天将其前肢捆绑,使其直立 2 h,形成后肢负重模型,结果发现联合负重能使家兔更早出现中期 KOA 软骨缺损表现。张冲等^[13]采用改良 Hulth 法联合强迫奔跑法 (约每日 2 h/800 m) 造模,2 周后出现软骨改变,10 周后出现典型的晚期 OA 样改变,13 周后获得典型的 KOA 模型。手术联合负重法或强迫运动法制作 KOA 模型可加快关节退变,缩短造模周期。

2.2 大鼠 KOA 模型的制备

2.2.1 大鼠制动诱导模型

大鼠制动模型多采用伸直位石膏固定法,将大鼠膝关节伸直 180°位,在踝关节至髌关节之间用医

用棉垫衬后,石膏绷带固定 5~6 层,一般固定 4 周、6 周、8 周时可分别获得早期、中期、晚期 KOA 模型。如钱洁等^[14]研究大鼠石膏制动模型与 ACLT 模型时发现,两者均能成功复制大鼠 KOA 模型,但 ACLT 模型在实验 6 周、8 周分别表现为早期和中期 OA,且其首动因素是软骨基质流失;石膏制动模型在实验 3 周、6 周和 8 周分别出现早期、中期和晚期 OA 表现,较 ACLT 模型出现病变时间早,且其病理特点是软骨细胞损伤和基质分解。

2.2.2 大鼠药物诱导模型

大鼠药物诱导模型常使用碘乙酸钠 (MIA)、木瓜蛋白酶、胶原蛋白酶等。将大鼠麻醉备皮,消毒铺巾,大鼠下肢屈曲,于髌韧带外侧凹陷处进针,针管稍向外侧倾斜,出现落空感后将一定浓度的药物注射入关节腔。如 Kelly 等^[15]用碘乙酸钠 (1 mg, 50 μ L) 成功诱导大鼠 KOA 模型。汪宗保等^[16]用 0.15 mL 2% 木瓜蛋白酶和 0.03 mol/L 左旋半胱氨酸的 2:1 混合溶液,在第 1、4 天分别两次注射进大鼠膝关节腔,结果发现 4~6 周后诱导出早期 KOA 模型。黄永明等^[17]在第 1 天和第 4 天给予大鼠膝关节腔注射 0.02 mg/50 μ L II 型胶原蛋白酶,7 d 后观察,大鼠体重下降,关节直径增大,组织形态学显示滑膜充血、纤维素覆盖及炎细胞浸润的早期 OA 的表现。

2.2.3 大鼠手术诱导模型

大鼠关节手术诱导 KOA 模型的方法有与家兔类似,有 Hulth 法、改良 Hulth 法、ACLT 法、内侧半月板横断法 (MMT) 等。如 Giuliana 等^[18]采用 MMT 法建立大鼠 KOA 模型,术后 1 周、3 周分别取胫骨平台软骨 (内外侧、内侧骨赘区) 和滑膜 (内外侧) 不同部位采集组织,分别用于组织学和基因表达检测,结果发现手术对外侧组织基因表达没有影响,但对胫骨平台内侧基因表达有影响,且与对照组和假手术组相比,MMT 组中 14 种基因的表达显著不同。该实验检测多个局部组织基因表达为评价潜在治疗药物对 OA 疾病进展的作用提供了良好范本。李安琪等^[19]采用髌韧带部分切损联合内侧副韧带横断法诱导大鼠 KOA 模型,术后 3 周和 6 周分别得到早期和晚期 KOA 模型。此外,Pernille 等^[20]使用关节外手术的方法研究雌性大鼠卵巢切除对软骨的影响,结果术后 9 W 成功得到绝经后 OA 的实验模型。此法对研究雌激素和雌激素样物质对软骨保护作用提供了有用的实验模型。

2.3 小鼠 KOA 模型的制备

2.3.1 小鼠手术诱导模型

小鼠手术模型多以切除或部分切除内侧半月板为主,如谢靖等^[21]用改造的胰岛素注射针头雄性 C57 小鼠实施半月板切断造模取得成功。方法是膝内侧入路,暴露出内侧半月板外缘,用改造弯曲的胰岛素注射针头钩出半月板并剪断,缝合切口。术后 1 周,胫骨平台软骨出现区域性磨损和胞外基质蛋白多糖减少;6 周、12 周后软骨磨损范围逐渐增大,至软骨下骨暴露;软骨胞外基质蛋白多糖的减少逐渐加剧。此法创面小、操作简单,能诱导出可靠的小鼠 KOA 模型。

2.3.2 小鼠药物诱导模型

对小鼠采用关节腔内药物诱导 KOA 模型的文献报道不多,其药物选择、操作方法与大鼠类似。常用药物为木瓜蛋白酶、碘乙酸盐和胶原酶。如 Kraan 等^[22]分别用木瓜蛋白酶、碘乙酸盐和胶原酶给予 C57 小鼠膝关节腔内单次注射后,小鼠膝关节局部出现基质减少、软骨细胞增殖和骨赘形成的 KOA 病理改变。并发现胶原酶是通过破坏韧带、肌腱等使关节不稳而诱发 KOA;木瓜蛋白酶或碘乙酸盐是直接干扰软骨代谢诱发 KOA。

2.3.3 小鼠基因调控模型

基因调控诱导 KOA 模型多以小鼠为研究对象。如 Arita 等^[23]将突变的人 Col2a1 两个等位基因导入小鼠基因序列,得到转基因小鼠较正常小鼠身材小,软骨生长紊乱且有腭裂,电镜示软骨 II 型胶原纤维密度降低、软骨细胞的高尔基体扩张,显示出早发性全身性 OA 和软骨发育不全的特征。曹斌等^[24]对 OA 转基因动物模型的文献研究发现,敲除小鼠 Col11a1 基因、敲除 Col2a1 基因、Del1 基因突变、II 型胶原基因突变、IX 型胶原基因突变、软骨基质基因缺陷等都可能致小鼠 OA 的发生。

2.3.4 小鼠肥胖诱导模型

肥胖是 OA 的危险因素,研究发现小鼠高脂饮食引起的肥胖,可引起 OA 及全身低度炎症的发生^[25],增加小鼠创伤性 OA 的严重程度^[26]。Asou 等^[27]研究增加的机械负荷在肥胖诱导 OA 发作中的作用时发现,高脂饮食能增加小鼠软骨细胞凋亡和骨赘形成,但此过程并不完全由于肥胖造成的关节负荷增加,而是机械负荷依赖和独立机制共同作用的结果。

2.4 豚鼠自发性 KOA 模型

豚鼠 KOA 模型也可以通过手术、关节腔注射等方法诱导,但文献报道以自发性豚鼠 KOA 模型为多。如马驹^[28]将 42 只 Hartley 豚鼠在自然喂养状态下,分别在 1、2、3、4、6、9、12 月龄时进行膝关节标

本的观察和检测,结果显示:组织学及改良 Mankin 评分在 1、2 月龄时,关节表面软骨结构、软骨细胞数量和软骨基质均正常,3 月龄时开始出现 OA 样改变,并随着月龄的增加,软骨退变逐渐加重,到 12 月龄时出现了中度 OA 的软骨表现;Micro-CT 扫描提示,软骨下松质骨由小月龄开始出现逐渐疏松化,在 4~6 个月龄时转向逐渐硬化,且软骨下骨板随着月龄的增加逐渐增厚、硬化。

2.5 犬 KOA 模型的制备

犬类 KOA 模型的制备多以手术和药物诱导为主,手术诱导可用 Hulth 法、改良 Hulth 法、ACLT 法、关节刻痕法^[29];药物多采用木瓜蛋白酶。如罗春海等^[30]用 ACLT 法诱导犬 KOA,术后 4 周、8 周、12 周进行组织学检测与高频超声检查,结果显示:随着造模时间的延长,模型犬膝关节组织学检测同超声图像观察结果均呈进行性加重表现,关节积液增多、滑膜组织增厚、内外髁软骨变薄,可见高频超声对急性期及早期 OA 病变敏感,可用于诊断早期 OA。

彭诗等^[31]对中华田园犬进行药物诱导 KOA,在第 1、4、7 天分别三次在犬膝关节腔注射 0.5 mL 4% 体积的木瓜蛋白酶溶液。结果模型犬出现静立时三肢站立,患肢不敢负重;行走时跳跃步态,患肢不敢蹬地,与 KOA 的临床表现吻合;组织病理学显示,滑膜壁血管明显增生,淋巴细胞浸润较多。

3 小结

骨关节炎(OA)不但给患者带来巨大痛苦和长久折磨,也给患者家庭和社会造成沉重的经济负担。据报道,我国 KOA 的发生率已达 18%^[32],因此研究 KOA 的发生、发展、转归及防治措施等,成为医务工作者面临的重要课题。KOA 动物模型为此类研究提供了良好的载体。目前复制 KOA 动物模型最常用的动物为家兔和大鼠,最常用的造模方法为石膏制动法、Hulth 法和关节腔药物注射,不同动物、不同造模方法所建立的 KOA 模型各具特点。

制动模型是通过石膏、外固定支架等长时间限制关节的活动,使肌肉、韧带、关节囊挛缩,关节面压力增大,久而导致关节软骨损害。此法无创伤,其病理改变缓慢,更接近人 KOA 的病变过程,避免了手术造模引起创伤性关节炎和滑膜炎的干扰。更适合于药物筛选、药物疗效及局部分子、炎症递质等方面的研究。石膏制动法较适于兔、大鼠等动物,且有中间位、伸直位、屈曲位固定的不同。伸直位法较为常用,当动物肢体处于伸直位时,其肌肉、

韧带、关节囊等受到牵拉,应力增大导致关节面压力增加,能进一步促进软骨的退变。有研究者认为屈曲位固定法在操作简便性、成功率等方面优于过伸位固定法,笔者实践后发现,受限于动物后肢的形态结构,屈曲位时石膏往往难以可靠固定,极易脱落。且笔者发现,在上石膏绷带时,不对肢体进行剃毛处理,使患肢动物毛发粘附于石膏绷带,能够有效防止石膏脱落,且毛发垫于皮肤与绷带间,可免于皮肤与绷带的直接摩擦,减少皮损的发生。应用石膏制动时,应注意,既要避免束缚过松,使绷带易于脱落;又要避免束缚过紧,造成肢体远端缺血肿胀,甚至坏死,并应做好防啃咬措施。

手术诱导法模型稳定,成功率较高,且造模时间短,病变时期易于控制。可分为关节内诱导和关节外诱导。关节内诱导通过破坏内侧副韧带、内侧半月板、前后交叉韧带、髌韧带等一种或多种组织,从而破坏膝关节结构,造成关节生物力学紊乱,关节失稳日久而诱发 KOA。关节外诱导 OA 包括关节撞击^[33]、卵巢切除^[34]、跟腱离断^[35]、股静脉或臀下静脉结扎^[36-37]等,较适用于 OA 早期病理改变的观察和药物的筛选。应当指出的是,作为关节内诱导的软骨刻痕法,不进行永久性关节稳定性破坏而诱导 KOA,将使 KOA 模型对各种治疗方式的反应更加敏感。手术诱导能较好的模拟创伤后 OA,适用于外科或显微外科方面的研究,但此法需要严格无菌环境,对操作要求较高,术后需要抗生素处理。手术引起的创伤出血和炎症,干扰了滑膜、软骨的生化代谢,因此不宜应用于 OA 生化代谢类的研究。

关节腔内注射药物的造模方法,操作简便,易于大量造模。且得到的模型相对稳定,软骨破坏明显,较宜于组织形态学、行为学的观察,亦可用于药物防治方面的研究。常用注射药物有:化学类,如碘乙酸盐、秋水仙碱、甲醛等;酶类,如木瓜蛋白酶^[38]、胶原蛋白酶、尿激酶^[39]等;激素类,如肾上腺皮质激素、催产素等,亦有注射菲律宾菌素、肿瘤坏死因子^[40]或白陶土、软骨碎片等异物诱发 KOA 模型者^[41]。应该指出的是,不同动物应选择其适宜的药物及浓度进行注射造模,如笔者在用 MIA(5 mg/mL,0.3 mL)对新西兰兔进行关节腔注射造模时,部分动物出现膝关节软骨下骨坏死的病理改变,值得注意。

自发性模型较少采用,可用于发病机制、症状观察、病理表现和防治效果等方面的研究。基因手段的发展为骨关节炎模型的研究提供了新的思路和前景。目前基因诱导模型多以基因缺陷小鼠为主,

可用于研究 OA 的致病基因、发病机制、软骨生化改变等的研究,也可用于测试某个基因片段对 OA 病变软骨的防止、延缓和逆转的研究^[42],并为研究基因手段预防和治疗 OA 提供美好前景。

总之,建立理想的疾病模型是实验研究 KOA 的重要基础,也是研究结果可靠性的重要保证。虽然复制 KOA 动物模型的方法多种多样,既可以选择不同种属动物,又可以对某一种属动物采用前述方法的一种或多种方法联合诱发,但是仍然没有一种模型能够完全模拟人 KOA 的发病机制、病例特点和临床表现等。不同动物用不同方法诱导的 OA 各有特点,实际应用时应根据研究目的、实验特点和实验条件等合理选择。

参考文献:

- [1] 黄桂成,王拥军. 中医骨伤科学 [M]. 北京:中国中医药出版社, 2016: 321-322.
- [2] 郭义. 实验针灸学 [M]. 北京:中国中医药出版社, 2016: 19.
- [3] 蒋洋洋,朱浩,张海. 人类与小鼠同源 lncRNA 基因及其表观遗传调控靶基因分析 [J]. 南方医科大学学报, 2018, 38(6): 731-735.
- [4] 曾俊华,马笃军,彭力平,等. 实验兔膝关节炎模型的建立及鉴定 [J]. 中国临床研究, 2016, 29(5): 679-682.
- [5] 尚平,贺宽,陈孝银,等. 过伸位和过屈位固定复制骨性关节炎动物模型的比较 [J]. 生物骨科材料与临床研究, 2006, 3(1): 11-14.
- [6] 陈达,彭力平,廖州伟,等. 木瓜蛋白酶与石膏制动建立兔膝关节炎模型的比较 [J]. 广东医学, 2017, 38(14): 2114-2118.
- [7] Hermeto LC, Derossi R, Oliveira RJ, et al. Effects of intra-articular injection of mesenchymal stem cells associated with platelet-rich plasma in a rabbit model of osteoarthritis [J]. Genet Mol Res, 2016, 15(3).
- [8] Hulth A, Lindberg L, Telhag H. Experimental osteoarthritis in rabbits. Preliminary report [J]. Acta Orthop Scand, 1970, 41(5): 522-530.
- [9] 熊元,赵振国,李传郡,等. 兔膝关节炎模型的制备及鉴定 [J]. 实验动物科学, 2013, 30(3): 31-34, 63.
- [10] Roman-Blas JA, Mediero A, Tardío L, et al. The combined therapy with chondroitin sulfate plus glucosamine sulfate or chondroitin sulfate plus glucosamine hydrochloride does not improve joint damage in an experimental model of knee osteoarthritis in rabbits [J]. Eur J Pharmacol, 2017, 794: 8-14.
- [11] 李炳辉,牛东生,孙玺淳,等. 直立负重法与 Hulth 法建立兔膝关节炎模型的对比研究 [J]. 宁夏医科大学学报, 2013, 35(3): 256-258, 262.
- [12] 黄吉利,罗明,潘捷,等. 持续被动运动对兔骨关节炎软骨细胞凋亡相关基因 P53、caspase-3、Bcl-2 和 Bax 的影响 [J].

- 中国老年学杂志, 2016, 36(24): 6067-6069.
- [13] 张冲, 王恒树, 阚秀莲, 等. 传统中药补肾固筋方对膝骨性关节炎 IL-1、TNF- α 的作用机制 [J]. 中国实验动物学报, 2015, 23(3): 312-315.
- [14] 钱洁, 邢雪松, 梁军. 大鼠膝关节骨性关节炎动物模型的两种实验方案 [J]. 实验室研究与探索, 2014, 33(11): 23-27.
- [15] Kelly S, Dunham JP, Murray F, et al. Spontaneous firing in C-fibers and increased mechanical sensitivity in A-fibers of knee joint-associated mechanoreceptive primary afferent neurones during MIA-induced osteoarthritis in the rat [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2012, 20(4): 305-313.
- [16] 汪宗保, 徐亚林, 廖威明, 等. 木瓜蛋白酶诱导大鼠膝早期骨关节炎软骨表面的电镜扫描 [J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(2): 177-182.
- [17] 黄永明, 潘建科, 郭达, 等. II 型胶原蛋白酶诱导 SD 大鼠膝骨关节炎模型的建立 [J]. 广东医学, 2015, 36(8): 1145-1148.
- [18] Salazar-Noratto GE, De Nijs N, Stevens HY, et al. Regional gene expression analysis of multiple tissues in an experimental animal model of post-traumatic osteoarthritis [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2019, 27(2): 294-303.
- [19] 李安琪, 冯伟, 何东仪, 等. 改良韧带缺损法建立大鼠膝骨关节炎模型 [J]. 上海中医药杂志, 2018, 52(5): 13-17.
- [20] Pernille HA, László BT, Thomas LA, et al. Ovariectomized rats as a model of postmenopausal osteoarthritis: validation and application [J]. Arthritis Res Ther, 2004, 6(2): 169-180.
- [21] 谢靖, 杨冠. 一种新的半月板切断导致小鼠骨关节炎方法的建立 [J]. 军事医学, 2013, 37(9): 708-711.
- [22] van der Kraan PM, Vitters EL, van de Putte LB, et al. Development of osteoarthritic lesions in mice by “metabolic” and “mechanical” alterations in the knee joints [J]. Am J Pathol, 1989, 135(6): 1001-1014.
- [23] Arita M, Li SW, Kopen G, et al. Skeletal abnormalities and ultrastructural changes of cartilage in transgenic mice expressing a collagen II gene (COL2A1) with a Cys for Arg- α 1-519 substitution [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2002, 10(10): 808-815.
- [24] 曹斌, 李彦林, 李晓林, 等. 骨关节炎的转基因动物模型 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(7): 1269-1272.
- [25] Griffin TM, Huebner JL, Kraus VB, et al. Induction of osteoarthritis and metabolic inflammation by a very high-fat diet in mice; effects of short-term exercise [J]. Arthritis Rheum, 2014, 64(2): 443-453.
- [26] Louer CR, Furman BD, Huebner JL, et al. Diet-induced obesity significantly increases the severity of posttraumatic arthritis in mice [J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(10): 3220-3230.
- [27] Asou Y, Iwata M, Ochi H, et al. Pleiotropic functions of high fat diet in the etiology of osteoarthritis [J]. PLoS One, 2016, 11(9): e0162794.
- [28] 马驯. 软骨下骨在 Hartley 豚鼠自发性骨性关节炎的发生与发展中属性变化的基础研究 [D]. 中国医科大学, 2018.
- [29] Marijnissen AC, van Roermund PM, Tekoppele JM, et al. The canine groove model, compared with the ACLT model of osteoarthritis [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2002, 10(2): 145-155.
- [30] 罗春海, 刘健莹, 刘瑶, 等. 高频超声对试验性犬膝关节骨关节炎诊断意义 [J]. 中国兽医学报, 2018, 38(1): 189-194.
- [31] 彭诗, 刘娟, 朱兆荣, 等. 电针对木瓜蛋白酶致骨关节炎模型犬血清中 IL-1、TNF- α 、SP 的影响 [J]. 中国兽医杂志, 2014, 50(6): 52-54.
- [32] 王斌, 邢丹, 董圣杰, 等. 中国膝骨关节炎流行病学和疾病负担的系统评价 [J]. 中国循证医学杂志, 2018, 18(2): 134-142.
- [33] Fischenich K, Pauly H, Button K, et al. A study of acute and chronic tissue changes in surgical and traumatically-induced experimental models of knee joint injury using magnetic resonance imaging and micro-computed tomography [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2017, 25(4): 561-569.
- [34] 王文胜, 陈伟, 沈堡垒, 等. 上、下坡跑台训练膝骨关节炎模型大鼠关节软骨及炎症因子的变化 [J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(2): 197-201.
- [35] Ou YS, Tan C, An H, et al. The effects of NSAIDs on types I, II, and III collagen metabolism in a rat osteoarthritis model [J]. Rheumatol Int, 2012, 32(8): 2401-2405.
- [36] 黄肖华, 段戡, 袁长深, 等. 结扎股静脉对兔膝关节骨组织形态学的影响 [J]. 中医正骨, 2010, 22(8): 16-18.
- [37] 戴子一. 基于¹HNMR 平台探讨揉髌手法对兔膝关节骨关节炎模型血清代谢组学的影响 [D]. 广西中医药大学, 2017.
- [38] 尼加提·外力, 居来提·买提肉孜, 李艳娜, 等. 沙疗温度对骨重建实验的影响及传热数值模拟研究 [J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(2): 181-185.
- [39] 王维山, 史晨辉, 周卓浩, 等. 一侧兔膝关节注射外源性尿酸酶型纤溶酶原激活物引起双侧膝关节软骨降解的实验 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(19): 3738-3741.
- [40] Malfait AM, Tortorella M, Thompson J, et al. Intra-articular injection of tumor necrosis factor- α in the rat: an acute and reversible *in vivo* model of cartilage proteoglycan degradation [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2009, 17(5): 627-635.
- [41] 马玉峰, 祁印泽, 王庆甫, 等. 关节内注射药物建立骨性关节炎动物模型研究进展 [J]. 中国骨伤, 2015, 28(1): 90-95.
- [42] 何名江, 张洪美, 荆琳, 等. 骨关节炎动物模型: 谁最适宜你的研究? [J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(46): 8069-8074.