

人颈椎间盘退变与细胞凋亡及基质金属蛋白酶11的表达**☆

郭团茂¹, 刘 淼², 张银刚², 张小卫², 武世勋²

Matrix metalloproteinase 11 expression and cell apoptosis in human cervical disc degeneration

Guo Tuan-Mao¹, Liu Miao², Zhang Yin-Gang², Zhang Xiao-Wei², Wu Shi-Xun²

Abstract

BACKGROUND: Previous studies have shown that matrix metalloproteinase 11 gene is obviously upregulated in human degenerated cervical and lumbar disc tissues.

OBJECTIVE: To investigate the relationship between matrix metalloproteinase 11 expression in human cervical intervertebral discs and cell apoptosis.

METHODS: Thirty discs from patients with cervical spondylosis diagnosed by MRI, and 20 discs of individuals with cervical spinal trauma but without anamnesis evidence for disc degeneration or previous spine-related operations were included.

RESULTS AND CONCLUSION: Hematoxylin-eosin staining showed that nucleus pulposus cells were significantly reduced ($P < 0.01$), but apoptotic cells were significantly increased ($P < 0.01$) in the degenerated nucleus pulposus tissue of cervical intervertebral discs than in the normal nucleus pulposus tissue. Immunohistochemical staining showed that matrix metalloproteinase 11 expression was significantly greater ($P < 0.01$) in the degenerated nucleus pulposus tissue of cervical intervertebral discs than in the normal nucleus pulposus tissue, and matrix metalloproteinase 11 expression was positively related to cell apoptosis detected by TUNEL ($r=0.44$, $P < 0.05$). Results showed that high expression of matrix metalloproteinase 11 can directly damage extracellular matrix, induce nucleus pulposus cell apoptosis, and therefore play an important role in the process of disc degeneration.

Guo TM, Liu M, Zhang YG, Zhang XW, Wu SX. Matrix metalloproteinase 11 expression and cell apoptosis in human cervical disc degeneration. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(37): 6937-6941. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 前期研究发现基质金属蛋白酶 11 基因在人退变颈、腰椎间盘组织中明显上调。

目的: 观察人退变颈椎间盘髓核组织中基质金属蛋白酶 11 的表达与细胞凋亡的关系。

方法: 纳入 30 个经 MRI 确认的退变颈椎间盘髓核组织和 20 个因颈椎创伤治疗获得的正常颈椎间盘髓核组织。

结果与结论: 苏木精-伊红染色显示退变的颈椎间盘髓核组织中髓核细胞较正常髓核组织明显减少 ($P < 0.01$), 而凋亡细胞较正常髓核组织明显增多 ($P < 0.01$)。免疫组化染色显示退变的颈椎间盘髓核组织中基质金属蛋白酶 11 的表达明显高于正常髓核组织 ($P < 0.01$), 且基质金属蛋白酶 11 表达与 TUNEL 染色检测到的细胞凋亡正相关 ($r=0.44$, $P < 0.05$)。说明高表达的基质金属蛋白酶 11 不仅可直接破坏细胞外基质尚可诱导髓核细胞凋亡, 在椎间盘退变的过程中发挥重要作用。

关键词: 颈椎间盘; 髓核; 退变; 细胞凋亡; 基质金属蛋白酶 11

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.37.023

郭团茂, 刘淼, 张银刚, 张小卫, 武世勋. 人颈椎间盘退变与细胞凋亡及基质金属蛋白酶 11 的表达[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(37):6937-6941. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

椎间盘退行性改变的发生和发展是一个复杂的过程, 而退行性改变的结果是导致退行性椎间盘疾患, 包括椎间盘源性疼痛、椎间盘突出症、椎管狭窄症、椎体失稳甚至是滑脱等脊柱疾病。在人类的生命早期, 多是在 20 岁左右椎间盘就开始出现退行性改变, 衰老、肥胖、吸烟、脊柱过度负荷、心理状况等因素都会加速椎间盘的退变^[1-3]。

近年来, 国内外学者对椎间盘退变进行了深入研究, 发现椎间盘退变是遗传和环境交互作用产生的病理过程, 而且遗传具有更重要的作用, 因此基因在椎间盘退变中的风险作用成

为研究热点。课题组前期的研究发现, 人退变颈、腰椎间盘基因谱中基质金属蛋白酶 11(matrix metalloproteinase-11, MMP-11)与相应的正常组织比较呈差异表达, 并且在退变组织中明显上调^[4]。但是 MMP-11 在退变椎间盘中的具体作用仍不清楚。

实验采用苏木精-伊红染色、TUNEL 染色和免疫组化染色对人退变的颈椎间盘髓核组织进行了研究, 以探讨椎间盘退变的发生机制。

1 材料和方法

设计: 体外对比观察实验。

时间及地点: 于 2009-10/2010-06 在西安交通大学环境与疾病基因教育部重点实验室完成。

¹Department of Orthopedics, Xianyang Central Hospital, Xianyang 712000, Shaanxi Province, China;
²Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital, Medical College of Xi'an Jiao Tong University, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China

Guo Tuan-mao☆, Doctor, Attending physician, Department of Orthopedics, Xianyang Central Hospital, Xianyang 712000, Shaanxi Province, China
gtm0619@163.com

Correspondence to: Zhang Yin-gang, Doctor, Associate professor, Master's supervisor, Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital, Medical College of Xi'an Jiao Tong University, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China
zyingang@mail.xjtu.edu.cn

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No.30400163*; Science and Technology Plan Program of Shaanxi Province, No.2008K14-01*;

Received: 2011-03-02
Accepted: 2011-04-23

¹咸阳市中心医院骨科, 陕西省咸阳市 712000; ²西安交通大学医学院第一附属医院骨科, 陕西省西安市 710061

郭团茂☆, 男, 1975年生, 陕西省西安市人, 汉族, 2011年西安交通大学毕业, 博士, 主治医师, 主要从事椎间盘退变性疾病的研究。gtm0619@163.com

通讯作者: 张银刚, 博士, 副教授, 硕士生导师, 西安交通大学医学院第一附属医院骨科, 陕西省西安市 710061 zyingang@mail.xjtu.edu.cn

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2011)37-06937-05

收稿日期: 2011-03-02
修回日期: 2011-04-23
(20101129008/WLM · S)

材料:

组织标本: 研究样本共50个, 分成退变组和正常组。退变组共30个颈椎间盘的髓核组织, 来源于西安交通大学第一附属医院骨科2009-10/2010-04住院并接受手术治疗(髓核摘除或者切吸术)的颈椎病患者。30例患者均为单节段的首次手术, 其中男性16例, 女性14例; 年龄23~60岁, 平均(43.72±6.86)岁; C₄₋₅的6例, C₅₋₆的16例, C₆₋₇的8例。所有病变节段均经MRI确认存在椎间盘退变。正常组样本采自于同一时期因颈椎创伤骨折而行融合手术的20例患者, 且既往无颈椎间盘引起的颈肩部疼痛史。男性13名, 女性7名。年龄25~50岁, 平均(37.54±3.54)岁; C₃₋₄的2例, C₄₋₅的5例, C₅₋₆的9例, C₆₋₇的4例。

试剂和仪器:

试剂及仪器	来源
TUNEL(POD)原位细胞凋亡检测试剂盒	德国 Roche 公司
兔抗人 MMP-11(G88)单克隆抗体	美国 Bioword Technology 公司
即用型免疫组化 SABC 试剂盒	武汉博士德生物工程有限公司
浓缩型 DAB 试剂盒	北京中杉金桥生物技术有限公司
GNP-9080 型隔水式恒温培养箱	江苏省金坛市汉康电子有限公司
CUT5062 型切片机	德国 Slee 公司
BX51 型倒置相差显微镜	日本 Olympus 公司

实验方法:

组织标本制备: 手术取出的新鲜样本以体积分数10%中性甲醛溶液固定48 h, 在体积分数10%的中性EDTA溶液中脱钙三四周(以大头针很容易刺穿髓核组织为准), 然后按照常规病理步骤进行逐级脱水, 石蜡包埋, 连续切片, 将附着厚约4 μm组织的载玻片置于60 °C恒温培养箱内烤片3 h, 使黏附紧密, 常温保存备用。

苏木精-伊红染色: 常规苏木精-伊红染色法对颈椎间盘髓核进行染色。细胞密度按照计数细胞总数除以高倍视野数计算, 每例切片至少计数7个400倍视野。

TUNEL染色: 参照Gavrieli等^[5]的方法进行原位细胞凋亡染色。凋亡细胞为细胞核中有棕色颗粒的阳性细胞, 计算凋亡指数: 取每100个软骨样细胞中凋亡细胞个数的平均值, 每例切片至少计数7个400倍视野。

免疫组化染色: 常规SABC法进行免疫组化

染色, 以单抗MMP-11(G88)为阳性对照, 用PBS液替代一抗作为阴性对照。以软骨样细胞的胞浆中呈现棕黄色为阳性表现, 观察切片在低倍镜下显色细胞的比例(A), 1分为显色细胞少于33%, 2分为33%~66%, 3分为66%以上; 评估切片在高倍镜下细胞着色的程度(B), 0分为细胞无着色, 1分浅黄色, 2分棕黄色, 3分棕褐色。最终每例切片阳性结果为A×B的值: 阴性(-), 积分为0分; 弱阳性(+), 积分为1~4分; 强阳性(++), 积分大于4分。

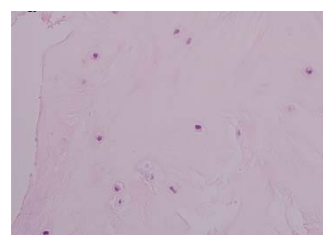
主要观察指标: ①髓核软骨样细胞的密度。②髓核细胞凋亡指数。③MMP-11的表达以及与髓核细胞凋亡的关系。

统计学分析: 应用SPSS 13.0软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 均数的比较采用t检验; 计数资料的比较、率的比较用 χ^2 检验, 相关性分析采用Spearman等级相关检验; 所有资料的比较均采用双侧概率检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

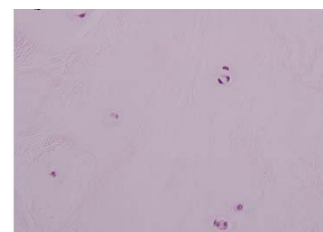
2 结果

2.1 纳入标本数量分析 实验共纳入50例标本均进入结果分析。

2.2 颈椎间盘髓核细胞形态和细胞密度 见图1。



a: Normal group (size of round-cartilage-like cell was uniform, most cells were isolated in the cartilage-like lacunae)



b: Degenerated group (cartilage-like cells were sparse, clusters of cell mass could be seen)

Figure 1 Hematoxylin-eosin staining of nucleus pulposus of intervertebral disc (×400)
图1 椎间盘髓核组织苏木精-伊红染色(×400)

苏木精-伊红染色见髓核细胞胞浆呈红色,

胞核呈蓝黑色, 而细胞外基质呈浅红色。正常组髓核细胞密度比较高, 细胞为大小较均匀的一类圆形软骨样细胞, 大部分呈孤立状位于软骨陷窝内, 其中仅有少数的、成对的小细胞簇, 或者仅有少数核染色质边集或核碎裂的凋亡细胞, 或者存在个别的空陷窝, 见图1a。退变组可见细胞明显稀疏, 软骨样细胞的胞核变小, 可见较多呈簇状的细胞团或者多核巨细胞, 凋亡细胞和空陷窝现象也增多, 见图1b。

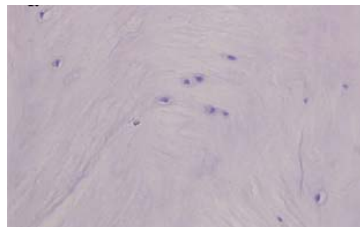
计数结果显示正常组髓核内软骨样细胞密度高于退变组, 两组间比较差异有非常显著性意义($P < 0.01$), 见表1。

表1 退变组和正常组椎间盘髓核组织内细胞密度及凋亡指数的比较
Table 1 Comparison of cell density and apoptotic index (AI) in nucleus pulposus of intervertebral disc in two groups ($\bar{x} \pm s$)

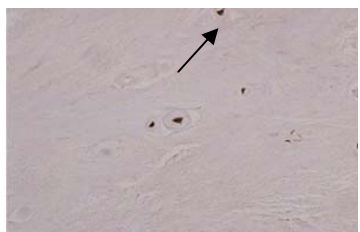
Group	n	Cell density (/400-fold visual field)	AI
Degenerated	30	6.24 $\pm$ 1.44 ^a	48.25 $\pm$ 14.27 ^a
Normal	20	8.72 $\pm$ 1.57	18.87 $\pm$ 7.50

^a $P < 0.01$, vs. normal group

2.3 颈椎间盘髓核细胞的凋亡情况 TUNEL染色见正常组髓核组织内软骨样细胞较多, 可见少量的TUNEL阳性细胞, 见图2a。退变组髓核内软骨样细胞减少, 可见较多的凋亡细胞, 表现为细胞核呈棕黄色, 并伴有核的变形、碎裂或染色质边集, 见图2b。



a: Normal group



b: Degenerated group

Figure 2 Apoptotic index in nucleus pulposus of intervertebral disc of two groups (TUNEL staining, $\times 400$; arrow: apoptotic cells)

图2 正常和退变椎间盘髓核组织细胞凋亡情况(TUNEL染色, $\times 400$)

计数结果显示, 正常组髓核细胞凋亡指数明显低于退变组($P < 0.01$), 见表1。

2.4 颈椎间盘髓核组织MMP-11的表达 免疫组化染色显示MMP-11主要表达于细胞浆中。正常组髓核组织

细胞较多, 可见少量的MMP-11阳性细胞, 胞浆呈浅的棕黄色, 胞膜皱缩, 见图3a; 退变组细胞较少, 可见较多的MMP-11阳性细胞, 胞浆棕黄色, 着色较深, 胞膜皱缩, 见图3b。



a: Normal group



b: Degenerated group

Figure 3 Expression of matrix metalloproteinase 11 in nucleus pulposus of intervertebral disc (SABC staining, $\times 400$; arrow: matrix metalloproteinase 11 positive cell)

图3 基质金属蛋白酶11在椎间盘髓核组织中的表达(SABC法, $\times 400$)

对切片的显色细胞比例及着色程度进行评估, 最终评估结果见表2, 退变组MMP-11阳性率明显高于正常组(83.33% vs. 30.00%, $P < 0.01$)。

表2 退变组和正常组椎间盘髓核组织内基质金属蛋白酶11的表达
Table 2 Expression of matrix metalloproteinase 11 in nucleus pulposus of intervertebral disc in two groups

Group	n	Negative (-)	Weak positive (+)	Strong positive (++)	Positive rate (%)
Degenerated	30	5	17	8	83.33
Normal	20	14	4	2	30.00

^a $P < 0.01$, vs. normal group

2.5 MMP-11蛋白的表达和髓核细胞凋亡的关系 见表3。

表3 退变椎间盘髓核组织中凋亡数量与基质金属蛋白酶11表达的关系
Table 3 Association between matrix metalloproteinase 11 (MMP-11) and apoptosis in nucleus pulposus of intervertebral disc in two groups

Item		TUNEL			r	P
		(-)	(+)	(++)		
MMP-11	(-)	4	1	0	0.44	0.015
	(+)	2	9	6		
	(++)	1	3	4		

Spearman相关分析结果显示,退变组髓核组织中软骨样细胞凋亡程度与MMP-11的表达呈正相关($r=0.44$, $P=0.015$),见表3。

3 讨论

细胞外基质在椎间盘中占绝大部分,而椎间盘细胞只占到极小部分,约1%,但是这些细胞的作用却是十分重要的。椎间盘基质的正常结构取决于椎间盘内细胞的物质合成、更新及修复的能力。椎间盘细胞合成蛋白多糖、胶原纤维及其他成分明显减少,或者修复破坏的椎间盘物质能力降低,使基质发生改变而出现椎间盘的退变^[6]。因而椎间盘细胞的功能和椎间盘退变密切相关。椎间盘组织内细胞数量减少或者活性的降低导致细胞功能受到影响,其中细胞数量的减少可能起到更大的作用。Trout等^[7]研究发现椎间盘细胞死亡发生在各个年龄段的人类椎间盘中,死亡细胞的比率随年龄增加而增长。有报道称,髓核中死亡细胞的比例从胎儿时期的2%逐渐增加到成人的50%以上。因而椎间盘细胞的减少,使功能细胞密度降低,活性细胞分布稀疏,出现细胞外基质改变,导致椎间盘退变的发生和进展。实验中,苏木精-伊红染色结果显示退变组椎间盘髓核组织内软骨样细胞的密度明显低于正常椎间盘,也验证了相关理论。

椎间盘细胞的死亡以凋亡为主,坏死不是很常见,这就使细胞凋亡在椎间盘退变的病理机制研究越来越引起国内外学者的关注。Wiesel等^[8]首先发现退变的椎间盘组织中细胞凋亡发生率比较高,过度的细胞凋亡引发椎间盘的退变。Gruber等^[9]报道椎间盘组织内存在比较高的细胞凋亡比率,细胞的凋亡是退变椎间盘内的细胞密度明显降低的重要原因。但是Roberts等^[10]认为椎间盘53%~73%的细胞高凋亡率将导致功能细胞在短时期内丧失殆尽,因而对Gruber等^[9]的研究结果提出了质疑。Mirakin等^[11]在2002年报道了他们的研究结果,在椎间盘突出症患者的退变椎间盘中,正常细胞稀少,而凋亡细胞的数量却很高,从而支持了Gruber等^[9]的研究结果。实验采用TUNEL原位凋亡检测法显示退变组椎间盘髓核组织细胞凋亡指数为 48.25 ± 14.27 ,明显高于正常组的 18.87 ± 7.50 。表明椎间盘软骨样细胞凋亡是细胞密度降低的主要原因。椎间盘细胞过度凋亡直接导致细胞个数减少,细胞密度降低,使基质的生成量减少。椎间盘基质合成与破坏的动态平衡被打破,就会出现椎间盘的退变。由于细胞凋亡和细胞生理状态的变化是椎间盘基质大分子变化的根源^[12],所以推断椎间盘细胞的过度凋亡可能是椎间盘退变的始发因素,作为退变的重要机制之一。

退变使椎间盘细胞生成细胞外基质减少,同时基质

降解程度相应增强。MMPs对基质的降解发挥着重要作用。Goupille等^[13]认为,在细胞外基质过度降解引起的椎间盘退变过程中,MMPs扮演了一个关键的角色。人椎间盘中存在许多类型的MMPs,它们是由椎间盘细胞和随血管侵入细胞产生的。研究者早已从人椎间盘纤维环和髓核的组织提取物中发现了胶原酶(MMP-1、MMP-8和MMP-13)、明胶酶(MMP-2和MMP-9)和基质溶解酶(MMP-3和MMP-11)等^[14]。基质溶解酶由于有广泛的作用底物和强大的破坏作用,被学者认为是软骨基质降解的主要酶类。在退变、突出椎间盘组织中MMP-3的含量和表达阳性率高于正常椎间盘组织^[15-16]。Kanemoto等^[17]研究发现退变椎间盘中MMP-3表达阳性,而且阳性率与MRI显示的椎间盘退变成正相关。由于MMP-11(又叫基质溶解酶-3)和MMP-3同属于基质溶解酶,但是尚未见到MMP-11与椎间盘退变关系的报道。实验采用免疫组化方法研究了MMP-11在退变颈椎间盘中的表达,发现退变组髓核组织内MMP-11蛋白表达阳性率明显高于正常组。提示MMP-11的高表达是颈椎间盘退变的重要因素。MMP-11引起椎间盘退变的作用可能包括:①MMP-11降解细胞外基质几乎所有成分。②激活其他MMPs产生放大效应。③通过诱导和激活活性递质^[18-19]。

实验进一步对退变组中软骨样细胞凋亡与MMP-11表达进行相关性分析,发现髓核细胞凋亡和MMP-11呈正相关。提示MMP-11的高水平表达将诱导髓核细胞的过度凋亡,导致椎间盘细胞密度的降低。MMPs通过Fas-FasL作用的死亡受体途径直接参与细胞的凋亡。研究发现MMP-9可以调控自身Fas/FasL的表达,并且通过他们介导的信号通路诱导细胞凋亡^[20-21]。张向梅等^[22]报道膜型MMP-1可以诱导人成骨细胞的凋亡,并且成剂量依赖性。因此MMP-11在因细胞凋亡引起的椎间盘退变中也发挥着重要作用。

4 参考文献

- [1] Zhao CQ, Jiang LS, Dai LY. Programmed cell death in intervertebral disc degeneration. *Apoptosis*. 2006;11(12):2079-2088.
- [2] Zhang YG, Sun ZM, Liu M, et al. Features of intervertebral disc degeneration in rat's aging process. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2009;10(7):522-527.
- [3] Zhang YG, Sun ZM, Liu JM, et al. Advances in susceptibility genetics of intervertebral degenerative disc disease. *Int J Biol Sci*. 2008;4(5):283-290.
- [4] Zhang YG, Guo X, Sun ZM, et al. Gene expression profiles of disc tissues and peripheral blood mononuclear cells from patients with degenerative discs. *J Bone Miner Metab*. 2010;28(2):209-219.
- [5] Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol*. 1992;119(3):493-501.
- [6] Aigner T. Apoptosis, necrosis, whatever: how to find out what really happens? *J Pathol*. 2002;198(1):1-4.
- [7] Trout JJ, Buckwalter JA, Moore KC. Ultrastructure of the human intervertebral disc: II. Cells of the nucleus pulposus. *Anat Rec*. 1982;204(4):307-314.
- [8] Wiesel SW, Cuckler JM, Deluca F. Acute low-back pain. An objective analysis of conservative therapy. *Spine*. 1980;5(4):324-330.

- [9] Gruber HE, Hanley EN Jr. Analysis of aging and degeneration of the human intervertebral disc. Comparison of surgical specimens with normal controls. *Spine*. 1998;23(7):751-757.
- [10] Roberts S, Johnson WE. Analysis of aging and degeneration of the human intervertebral disc. *Spine*. 1999;24(5):500-501.
- [11] Mirakin R, Nye K, Palazzo FF, et al. Methods for detecting apoptosis in thyroid disease. *J Immunol Methods*. 2002;265 (1-2): 161-175.
- [12] Wang DQ, Liu M, Song HJ, et al. Zhongguo Xuefu Chongjian Waikexue Zazhi. 2008;22(4):421-425.
- 王栋琪, 刘淼, 宋焕瑾, 等. 人退变腰椎间盘中细胞凋亡与Bax及半胱氨酸蛋白酶蛋白3基因的表达[J]. 中国修复重建外科杂志, 2008, 22(4): 421-425.
- [13] Goupille P, Jayson MI, Valat JP, et al. Matrix metalloproteinases: The clue to intervertebral disc degeneration? *Spine*. 1998;23(14): 1612-1626.
- [14] Sedowofia KA, Tomlinson IW, Weiss JB, et al. Collagenolytic enzyme systems in human intervertebral disc: their control, mechanism, and their possible role in the initiation of biomechanical failure. *Spine*. 1982;7(3):213-222.
- [15] Nemoto O, Yamagishi M, Yamada H, et al. Matrix metalloproteinase-3 production by human degenerated intervertebral disc. *J Spinal Disord*. 1997;10(6):493-498.
- [16] Nishida T. Kinetics of tissue and serum matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in intervertebral disc degeneration and disc herniation. *Kurume Med J*. 1999;46(1): 39-50.
- [17] Kanemoto M, Hukuda S, Komiya Y, et al. Immunohistochemical study of matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in human intervertebral discs. *Spine*. 1996; 21(1):1-8.
- [18] Wang Y, Yang L, Zhang J, et al. Differential MMP-2 activity induced by mechanical compression and inflammatory factors in human synoviocytes. *Mol Cell Biomech*. 2010;7(2):105-114.
- [19] Awad AE, Kandalam V, Chakrabarti S, et al. Tumor necrosis factor induces matrix metalloproteinases in cardiomyocytes and cardiofibroblasts differentially via superoxide production in a PI3K gamma-dependent manner. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2010; 298(3): 679-692.
- [20] Tamura F, Nakagawa R, Akuta T, et al. Proapoptotic effect of proteolytic activation of matrix metalloproteinases by *Streptococcus pyogenes* thiol proteinase (*Streptococcus pyogenes* exotoxin B). *Infect Immun*. 2004;72(8):4836-4847.
- [21] Gregory MS, Saff RS, Marshak-Rothstein A, et al. Control of ocular tumor growth and metastatic spread by soluble and membrane Fas ligand. *Cancer Res*. 2007;67(24):11951-11958.
- [22] Zhang XM, Xie H, Yuan LQ, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2009;13(2):238-243.
- 张向梅, 谢辉, 袁凌霄, 等. 不同年龄女性血清可溶性模型基质金属蛋白酶1水平变化及对人成骨细胞凋亡的诱导[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(2):238-243.

来自本文课题的更多信息--

基金资助: 国家自然科学基金(30400163), 课题名称: 骨髓间质干细胞椎间盘内异位分化及差异基因的评价; 陕西省科技计划项目(2008K14-01), 课题名称: 人退变颈椎间盘组织基因表达谱的分析。

作者贡献: 实验设计为郭团茂、张银刚, 实施为郭团茂、武世勋, 评估为刘蕊、张小卫, 资料收集为郭团茂、武世勋, 郭团茂成文, 刘蕊、张小卫审核, 张银刚对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理批准: 实验征得患者本人及其家属的知情同意, 并经西安交大医学院伦理委员会批准。

本文创新性:

提供证据: 检索 PUBMED, WEB of SCIENCE, CNKI 数据库中检索至 2011-01 的文献, 检索词: “椎间盘退变、凋亡、基质金属蛋白酶、细胞外基质、基因表达谱”, 未见与文章密切相关的研究。

创新点说明: 在前期研究的结果上, 实验选取退变椎间盘差异表达明显的基质金属蛋白酶 11 进行研究, 发现基质金属蛋白酶 11 不仅对椎间盘细胞外基质进行破坏, 而且可以直接导致髓核细胞的凋亡。



ISSN 1673-8225 CN 21-1539/R 2011 年版权归《中国组织工程研究与临床康复》杂志社所有



SCI收录的《中国神经再生研究(英文版)》杂志

Neural Regeneration Research(NRR)

国际投稿服务项目部



我们的服务项目与内容

③ 提供稿件格式规范和首次投稿服务:

- ▶ 按所投期刊要求规范稿件格式:
这也是投稿前的一项重要工作。
稿件格式应符合所投期刊的规范,
需要非常熟悉所投期刊稿约的格式要求。
- ▶ 撰写附信:
投稿前要准备一份专业的适合所投期刊的投稿信,
会为稿件赢得好的初步印象。
- ▶ 分析投稿期刊的反馈意见:
认真分析审稿人和编辑所提出的修改意见,
逐条准确回复是投稿流程中的关键环节!

④ 提供临床实验注册服务:

北美临床注册中心。

根据WHO临床试验注册和国际医学杂志编辑委员会的要求, 所有以人体为研究对象的上市、未上市药物、装置和设备、外科、咨询等的随机/非随机对照试验、对照/非对照临床研究, 在招募患者之前都需要将试验设计的有关信息注册在临床试验注册库上。

世界主流的近千余家杂志均认可北美临床注册中心(clinicaltrials.gov)的注册记录。

要求注册申请者以英文填写包括研究资助者、实施者、主要测量指标等20个条目的信息, 每3月跟踪已注册试验的结果。

没有经过注册的临床试验类稿件很可能因此而拒稿,
甚至可能失去投稿的机会。

⑤ 提供课题所需相关信息检索服务

- ① SCI收录杂志已出版的文章。
- ② 国外发表或未发表的硕博学位论文信息。
- ③ 临床在研课题相关资料。
- ④ 提供有关国际信息资料的分析报告:
 - A. SCI收录期刊信息分析报告:
单个学科, 多个学科, 有标准项目。
 - B. 单本期刊分析报告:
1本, 3-5本, 6-10本, 有标准项目。
 - C. 课题文献检索分析报告:
1个问题或多个问题, 有标准项目。
 - D. 国际会议文章在SCI收录杂志发表的信息:
1个会议或多个会议, 也可代为会议注册。

