

· 基础研究 ·

电磁场对骨髓间充质干细胞聚集蛋白聚糖 I、II 型胶原和 Sox9 等基因表达的影响

刘宇 吴华 刘朝旭 李贵振 赵文春 杨勇

【摘要】目的 探讨 15 Hz、1 mT 电磁场 (EMFs) 对骨髓间充质干细胞成软骨分化指标聚集蛋白聚糖 (Agc) I、II 型胶原和 Sox9 等的影响及其机制。**方法** 体外培养 SD 大鼠骨髓间充质干细胞, 取第 3 代细胞, 用 15 Hz、1 mT EMFs 刺激, 8 h/d。采用半定量逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 法检测甲状旁腺激素受体相关肽 (PTHrp)、Agc I、II 型胶原和 Sox9 等 mRNA 的表达, 用 Western Blot 检测 II 型胶原蛋白的表达。加入解蛋白激酶 A (PKA) 抑制剂 H-89 和蛋白激酶 C (PKC) 抑制剂 Go-6976, 并再次用 RT-PCR 法和 Western Blot 观察 EMFs 对 Agc I、II 型胶原和 Sox9 等 mRNA 的表达的影响。**结果** EMFs 促进骨髓间充质干细胞 PTHrp、Agc I、II 型胶原和 Sox9 等 mRNA 的表达, 促进 II 型胶原蛋白的表达; 在加入 H-89 (10 μ m) 和 Go-6976 (12 μ m) 后 EMFs 的这种促进 Agc I、II 型胶原的效应就明显减弱, 但 Sox9 的表达不受影响。**结论** EMFs 促进骨髓间充质干细胞成软骨分化指标 Agc I、II 型胶原和 Sox9 等 mRNA 的表达, 这种促进作用同 PKA 和 PKC 通路有联系。

【关键词】 电磁场; 骨髓间充质干细胞; 聚集蛋白聚糖 I 型胶原; 聚集蛋白聚糖 II 型胶原

Effects of electromagnetic fields on the expressions of aggrecan I and II collagen and Sox9 by bone marrow mesenchymal stem cells LIU Yu*, WU Hua, LIU Zhao-xu, LI Gui-zheng, ZHAO Wen-chun, YANG Yong.

* Department of Orthopedics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Corresponding author: WU Hua, Email: wuhua360@yahoo.com.cn

【Abstract】Objective To study the expressions of aggrecan (Agc) I and II collagen and Sox9 by bone marrow mesenchymal stem cells exposed to electromagnetic fields (EMFs) and its mechanisms involved. **Methods** Bone marrow mesenchymal stem cells were isolated from Sprague-Dawley rats and cultured in vitro. The third passage cells were harvested and exposed to 15 Hz 1 mT EMFs for 8 h/d. The semi-quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) technique was used to measure parathyroid hormone receptor related peptide (PTHrp), Agc I and II collagen and Sox9 mRNA. Western blotting was used to measure type II collagen expression. After the inhibitor of protein kinase A (PKA) H-89 and the inhibitor of protein kinase C (PKC) Go-6976 (12 μ m) were added, the effects of EMFs on Agc I and II collagen and Sox9 mRNA expressions were measured again by using RT-PCR, and Western blotting technique. **Results** The EMFs induced significant increase of mRNA expressions of PTHrp, Agc I and II collagen and Sox9 in comparison to the controls, and promoted type II collagen protein expression. The Agc I and II collagen expressions decreased after PKA pathway inhibitor H-89 and PKC inhibitor Go-6976 were added, but the mRNA expression of Sox9 was not affected. **Conclusion** This study shows 15Hz 1mT EMFs can promote mRNA expressions of Agc I and II collagen and Sox9 of chondrogenesis differentiation markers in bone marrow mesenchymal stem cells. The effect is correlated with PKA and PKC pathways.

【Key words】 Electromagnetic field; Bone marrow; Mesenchymal stem cell; Aggrecan I collagen; Aggrecan II collagen

大量研究表明, 电磁场 (electromagnetic fields, EMFs) 对骨细胞、骨母细胞、骨髓间充质干细胞等具有促分化效应。这种促分化效应的机制之一就是 EMFs

能促进细胞自分泌或旁分泌一些细胞因子来发挥作用, 如 EMFs 可以促进成骨细胞释放骨形态发生蛋白 2 (bone morphogenetic protein 2, BMP2)、骨形态发生蛋白 4 (bone morphogenetic protein 4, BMP4)、转化生长因子 β 1 (transforming growth factor β 1, TGF β 1)、转化生长因子 β 2 (transforming growth factor β 2, TGF β 2)、前列腺素 E (prostaglandin E, PGE) 等^[1-4]。这些细胞因子中有些也会影响软骨的分化, 如 TGF β 1、PGE2 等^[5, 6]。骨髓间充质干细胞是一类具有多项分化潜能

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2009.08.004

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (50477043)

作者单位: 430030 武汉, 华中科技大学同济医学院附属同济医院骨科 (刘宇、吴华、刘朝旭、李贵振、杨勇); 湖北省十堰市郧阳医学院附属东风医院骨科 (刘宇); 海军工程大学电力电子技术研究所 (赵文春)

通信作者: 吴华, Email: wuhua360@yahoo.com.cn

的细胞,能向成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞等分化^[7],其命运取决于外部环境及体内的信号通路的变化。我们前期的实验表明,EMFs 能影响骨髓间充质干细胞向成骨细胞的分化。基于上述因素,我们认为 EMFs 也可能影响骨髓间充质干细胞向成软骨细胞的分化。本研究旨在探讨 EMFs 对骨髓间充质干细胞成软骨细胞分化指标聚集蛋白聚糖 (aggrecan, Agc), II 型胶原和 Sox9 等的影响,并对是否可以促进骨髓间充质干细胞甲状旁腺激素受体相关肽 (parathyroid hormone related peptide receptor, PTHrp) 的表达,以及 EMFs 对成软骨分化指标表达的影响是否同蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA) 和蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 等信号通路具有相关性进行研究。

材料与方法

一、主要试剂及仪器

1. 主要试剂:美国 Hyclone 公司产低糖必需培养基 (Dulbecco minimum essential medium Dulbecco-low glucose, DMEM-LG),高糖必需培养基 (Dulbecco minimum essential medium Dulbecco-high glucose, DMEM-HG);Gibco 公司产优质胎牛血清;Amersco 公司产胰蛋白酶;Amersco 公司产逆转录酶;北京博大泰克聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 试剂;英骏公司合成引物;武汉博士德公司产十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 试剂盒、TBST 缓冲液、硝酸纤维素膜;北京中杉金桥 II 型胶原一抗、二抗。Super 公司产 ECL 发光液;Biosource 公司产 H-89 (Lot Number:1402330);Sigma 公司产 Go-6976 (CAS Number 136194-77-9) 维生素 C、地塞米松, TGF- β_1 、胰岛素、转铁蛋白、亚硒酸、牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA)、丙酮酸盐。

2. 主要仪器:海军工程大学电机系设计与制造的电磁场发生器;倒置相差显微镜 (Olympus, 日本);Eppendorf 产 PCR 仪;BIO-RAD 凝胶成像分析系统;分光光度计 (岛津 1240 紫外, 日本);酶标仪等。

二、实验动物

SD 大鼠 6 只,4~5 周龄,体重为 100~120 g,雌雄不限,由同济医学院实验动物中心提供。

三、实验方法

1. 骨髓间充质干细胞的分离及体外培养:参照文献^[8],将大鼠颈椎脱臼处死后,用 75% 酒精浸泡 10 min,在无菌操作台上分离双侧股骨,去除股骨周围肌肉组织,剪去包括骺板在内的两侧骺端。用 20 ml 注射器抽取 10 ml 浓度为 10% 的 DMEM-LG 培养基 (内含青霉素、链霉素各 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 冲洗骨髓腔。反

复吹打骨髓细胞悬液后,计数并调整细胞密度约 5×10^6 个/ml 后直接将其接种于 50 ml 的培养瓶内,置于 37℃、5% CO_2 、饱和湿度的细胞培养箱中进行培养,接种后约 24 h 开始换液,以后每 3 d 换液。由于骨髓冲洗液中红细胞、白细胞以及造血干细胞在体外主要呈悬浮状态,故通过体外单层细胞培养并定期换液可将其剔除,所余的贴壁生长细胞主要为骨髓间充质干细胞。约 7~10 d 后,当细胞铺满单层时,用 0.25% 胰蛋白酶消化传代。

2. 磁场暴露:磁场装置由海军工程大学设计,能产生各种不同频率、场强的电磁场,本试验选用 15 Hz、1 mT 的 EMFs。

3. 半定量逆转录聚合酶链反应 (semi-quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 检测 EMFs 对骨髓间充质干细胞 Sox9, II 型胶原, Agc I 等 mRNA 的表达:取第 3 代骨髓间充质干细胞分别种入 60 mm 的培养皿中,细胞密度控制在 3×10^6 个/ml,每皿 4 ml,分对照组、EMFs 组、成软骨诱导组,各 3 皿。待细胞贴壁后,EMFs 组放入 15 Hz、1 mT EMFs 中刺激,8 h/d;成软骨诱导组加入成软骨诱导剂培养基 (高糖 DMEM 含 10% FBS、胰岛素 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、转铁蛋白 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、亚硒酸 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、BSA 1.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、丙酮酸盐 1 mM、Vitc 37.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、地塞米松 10^{-7} M、TGF- β_1 50 ng/ml)。作用 3 d 后收集细胞,提取 RNA,进行 RT-PCR,2% 琼脂糖凝胶电泳,以及凝胶成像及分析。引物设计见表 1。

表 1 引物序列和 PCR 条件

引物名称	引物序列	退火温度	循环数	产物 (bp)
II 型胶原 (Col2a1)	5-CACTCATCTGTTGTGAT-GAGTTCTCC-3 5-CAACACACACCAGCG-CAGTTT-3	60	28	180
Sox9	5-AAAGGAAGGAAGG-GAAGAAAGG-3 5-AATATG-GCATCTTTTCGATTTCTG-3	56	30	201
聚集蛋白聚糖 (aggrecan)	5-ACGGTGGGAAAT-GAAAGAAATG-3 5-TCCCACTCACATGGT-GTCTTCT-3	56	30	216
甲状旁腺激素受体相关肽 (PTHrP)	5-CGGAATTCTGGAG-GCGCTGATTCCTACA-3 5-CGGGATCCAACGTGTC-CTTGGAGATCT-3	60	30	600
磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH)	5-GTGCTGAGTATGTCGTG-GAG-3 5-GTCTTCTGAGTGGCACT-GAT-3	56	28	301

4. RT-PCR 法检测 PKA 和 PKC 通路抑制剂对骨髓间充质干细胞 Agc I, II 型胶原和 Sox9 等 mRNA 的表达的影响:取第 3 代骨髓间充质干细胞分别种入

60 mm 的培养皿中,细胞密度控制在 3×10^6 个/ml,每皿 4 ml。分对照组、成软骨诱导组、EMFs 组、EMFs 并加 H-89(10 μ m)组和 EMFs 并加 Go-6976(12 μ m)组。待细胞贴壁后,需要 EMFs 刺激的组放入 15 Hz、1 mT 的 EMFs 中暴磁刺激,8 h/d。共刺激 3 d 后收集细胞,提取 RNA,进行 RT-PCR 和凝胶成像分析。得出数据进行统计学分析。

5. 免疫印迹法检测蛋白的表达:取第 3 代骨髓间充质干细胞分别种入 60 mm 的培养皿中,细胞密度控制在 3×10^6 个/ml,分对照组、成软骨诱导组、EMFs 组、EMFs 并加 H-89(10 μ m)组和 EMFs 并加 Go-6976(12 μ m)组。待细胞贴壁后,EMFs 组放入 15 Hz、1 mT 的 EMFs 中暴磁刺激,8 h/d。成软骨诱导组加入成软骨诱导培养基,抑制剂组加入相应的抑制剂。作用 2 周后按如下步骤操作:①细胞用预冷的 PBS 洗 3 遍,加入细胞裂解液 200 μ l,冰上裂解 30 min;②低温离心机,4℃ 12000 g 15 min,取上清;③蛋白浓度按 BCA 试剂盒说明书检测;④取 40 μ g 蛋白于 12% 的 SDS-PAGE 凝胶上电泳,浓缩胶,40 V,1 h,分离胶 120 V,2 h;⑤电泳后 350 mA 转膜 1 h;⑥将膜放入 5% 脱脂奶粉(TBST 配制)封闭 1 h;⑦用含有抗体的封闭液(1:1000 稀释)孵育 NC 膜,4℃ 过夜;⑧TBST 洗 15 min $\times$ 3 次;⑨二抗室温孵育 2 h;⑩TBST 洗 15 min $\times$ 3 次;⑪加适量 ECL,胶片曝光。

四、统计学分析

数据均以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,应用 SPSS 13.0 版软件进行统计学分析,应用单因素方差分析进行统计学处理。

结 果

一、骨髓间充质干细胞的体外培养

于第 1 次换液后 10 d 倒置显微镜下观察,骨髓间充质干细胞成梭形或多边形,见图 1。

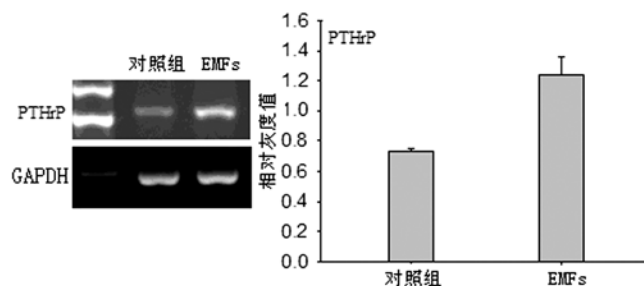


图 1 骨髓间充质干细胞在倒置显微镜下观察成梭形或多边形($\times 100$)

二、EMFs 促进骨髓间充质干细胞 PTHrP mRNA 的表达

为研究 EMFs 对骨髓间充质干细胞 PTHrP 的影

响,我们对干细胞予以刺激后,用 RT-PCR 的半定量方法检测 PTHrP mRNA 的表达情况。结果发现,在 15 Hz、1 mT 的 EMFs 刺激 8 h/d, 共刺激 3 d 的情况下,PTHrP mRNA 表达明显增高。见图 2。

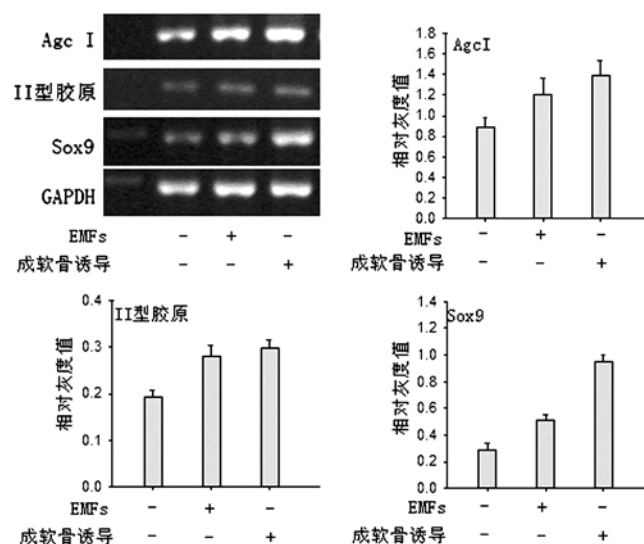


注:EMFs 在 15 Hz、1 mT、8 h/d 的刺激下,共刺激 3 d。对照组相对灰度值为 (0.724 ± 0.135) ,刺激组相对灰度值为 (1.336 ± 0.263) ($n=3, P<0.05$),各组灰度值用内参(GAPDH)标准化

图 2 EMFs 促进骨髓间充质干细胞 PTHrP mRNA 的表达

三、EMFs 促进骨髓间充质干细胞 Agc I、II 型胶原和 Sox9 mRNA 的表达

Agc I、II 型胶原和 Sox9 等是骨髓间充质干细胞向成软骨分化的重要指标。我们采用 RT-PCR 的方法检测骨髓间充质干细胞成软骨分化指标 Agc I、II 型胶原和 Sox9 等 mRNA 的表达情况。结果发现,EMFs 促进这 3 种基因 mRNA 的表达。同时我们还做了成软骨诱导培养基的诱导试验,作为阳性对照,结果 EMFs 促进 Sox9、II 型胶原 mRNA 的表达弱于成软骨诱导培养基的诱导。见图 3。



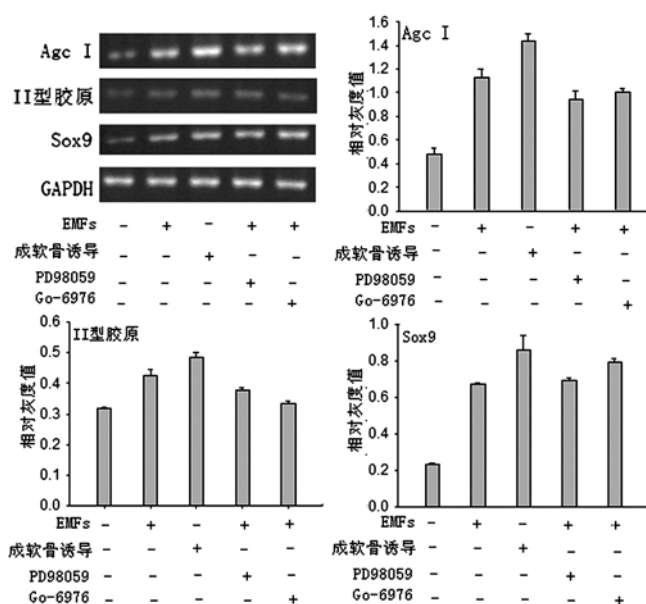
注:EMFs 促进骨髓间充质干细胞成软骨指标 Agc I、II 型胶原、Sox9 等 mRNA 的表达,但同成软骨诱导培养基相比其诱导作用较弱($n=3, P<0.05$)

图 3 EMFs 对骨髓间充质干细胞成软骨指标 Agc I、II 型胶原、Sox9 等 mRNA 表达的影响

四、抑制 PKA 或 PKC 通路下调 EMFs 促进的骨髓

间充质干细胞 AgcI 和 II 型胶原 mRNA 的表达

PKA 和 PKC 是 PTHrP 下游的重要信号通路,为此我们检测了这 2 个通路对 EMFs 促进成软骨指标表达的影响。我们在培养的骨髓间充质干细胞中分别加入 PKA 抑制剂 H-89 (10 μ m) 和 PKC 抑制剂 Go-6976 (12 μ m),观察成软骨分化指标:Agc I、II 型胶原和 Sox9 等 mRNA 的表达情况。结果发现,EMFs 促进 Agc I、II 型胶原和 Sox9 等 mRNA 的表达,而在同时加入 PKA 抑制剂 H-89(10 μ M) 和 PKC 抑制剂 Go-6976 (12 μ M)后这种促进效应部分的减弱。但 Sox9 的表达似乎不受影响。见图 4。



注:在加入 PKA 抑制剂 H-89 后 EMFs 促进的 Agc I 和 II 型胶原 mRNA 的表达均不同程度的受到了抑制 ($n=3, P<0.05$), 但 Sox9 的表达无明显变化 ($P>0.05$)。在加入 PKC 抑制剂 Go-6976 后 Agc I 和 II 型胶原 mRNA 的表达也均不同程度的受到了抑制 ($n=3, P<0.05$), 但 Sox9 的表达反而增高了 ($P>0.05$)

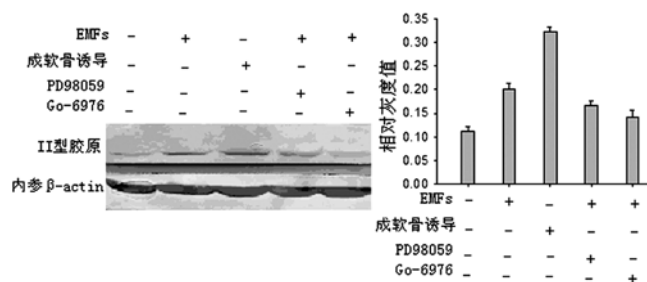
图 4 EMFs 促进 Agc I、II 型胶原、Sox9 等 mRNA 的表达受 PKA 和 PKC 通路的影响

五、抑制 PKA 或 PKC 通路下调 EMFs 促进的骨髓间充质干细胞 II 型胶原蛋白的表达

在上面的研究中我们发现加入 PKA 抑制剂 H-89 (10 μ M) 和 PKC 抑制剂 Go-6976 (12 μ M) 可影响 Agc I 和 II 型胶原等的表达。为进一步证实我们的实验结果,我们选取 II 型胶原为我们的评价指标,在蛋白水平予以验证。结果发现,EMFs 促进 II 胶原的表达,并且这种促进作用也可以部分的被 PKA 抑制剂 H-89 或 PKC 抑制剂 Go-6976 减弱,这同 PCR 的结果一致。见图 5。

讨 论

软骨的修复一直是骨组织工程的一个热点和难点。骨髓间充质干细胞由于其具有良好的增殖性和易



注:EMFs 的作用下,II 型胶原的表达增高,在加入 PKA 抑制剂 H-89 或 PKC 抑制剂 Go-6976 后,II 型胶原的表达减弱,PKC 抑制剂 Go-6976 的抑制作用更强,但却不能完全抑制

图 5 EMFs 影响骨髓间充质干细胞 II 型胶原的表达

获取的特点,在骨组织工程中倍受关注。早在上世纪 70 年代就发现,EMFs 对骨组织的代谢有着诸多的影响^[9]。本实验研究发现,EMFs 对骨髓间充质干细胞的 PTHrP 起上调的作用。故我们考虑 EMFs 有可能对骨髓间充质干细胞的成软骨分化具有一定的影响。

Agc I、II 型胶原是软骨基质的关键组成部分,Sox9 是软骨分化重要的转录因子,因此 Agc I、II 型胶原和 Sox9 等常作为骨髓间充质干细胞向成软骨分化的重要指标^[10-12]。为此本研究检测了 EMFs 对骨髓间充质干细胞 Agc I、II 型胶原、Sox9 等 mRNA 表达的影响。结果显示,EMFs 能够促进骨髓间充质干细胞 Agc I、II 型胶原、Sox9 等 mRNA 表达,但这种促进作用不及成软骨诱导培养基。

PTHrP 是 G 偶联蛋白受体 B 亚类的成员之一,PTHrP 的活化会引起细胞内多个信号通路的活化,其中重要的是 cAMP-PKA 通路和磷脂酶 C/PKC 通路^[13, 14]。本研究检测了 EMFs 促进骨髓间充质干细胞 Agc I、II 型胶原、Sox9 等 mRNA 表达的效应是否同这两个通路有关,结果显示,EMFs 促进 Agc I、II 型胶原的表达效应可被 PKA 抑制剂 H-89 和 PKC 抑制剂 Go-6976 所抑制,但 Sox9 的表达却不受 PKA 抑制剂 H-89 的影响,甚至在加入 PKC 抑制剂 Go-6976 起表达升高。这其中可能存在其他的机制。但本研究试验表明,EMFs 有可能是通过促进 PTHrP 表达后再激活 cAMP-PKA 通路和磷脂酶 C/PKC 通路等来促进 Agc I、II 型胶原的表达。

关于 EMFs 对软骨分化的影响,也有类似的报道。Nicolin 等^[15]研究发现,在 75 Hz、2 mT 的 EMFs 能够促进软骨细胞 II 型胶原的表达,Ciombor 等^[16]也得到一致的结果,而在强磁场(3 T)的作用下 II 型胶原的表达则受到抑制^[17]。本实验以骨髓间充质干细胞为研究对象,在 15 Hz、1 mT 的磁场参数作用下,促进了 MSCs 向成软骨分化,不仅促进 II 型胶原的表达,还促进 Agc I 等成软骨分化重要转录因子的高表达,这表明此条件下的 EMFs 刺激可能对成软骨分化更有效。

本实验只探讨了在刺激早期(3 d)的效应,长期的刺激是否也会得到一致的效果没有进行研究,因为时间参数对其效应是一个非常重要的因素。其次在 EMFs 的作用下是否促进了一些促成软骨分化的因子如转化生长因子 $\beta 1$ 等的释放没有进行研究,这也是我们今后需要深入研究的内容。

总之,本实验结果表明,EMFs 对成软骨分化具有促进作用,这可以作为软骨组织工程的一个辅助,并且由于其体外的可控性,因此可用于软骨修复体外的辅助治疗。

参 考 文 献

- [1] Aaron RK, Wang S, Ciombor DM. Upregulation of basal TGF β levels by EMF coincident with chondrogenesis—implications for skeletal repair and tissue engineering. *J Orthop Res*, 2002, 20:233-240.
- [2] Li JK, Lin JC, Liu HC, et al. Cytokine release from osteoblasts in response to different intensities of pulsed electromagnetic field stimulation. *Electromagn Biol Med*, 2007, 26:153-165.
- [3] Sakurai T, Terashima S, Miyakoshi J. Enhanced secretion of prostaglandin E2 from osteoblasts by exposure to a strong static magnetic field. *Bioelectromagnetics*, 2008, 29: 277-283.
- [4] Fassina L, Saino E, Visai L, et al. Electromagnetic enhancement of a culture of human SAOS-2 osteoblasts seeded onto titanium fiber-mesh scaffolds. *J Biomed Mater Res A*, 2008, 87:750-759.
- [5] Jakob M, Demartean O, Suetterlin R, et al. Chondrogenesis of expanded adult human articular chondrocytes is enhanced by specific prostaglandins. *Rheumatology (Oxford)*, 2004, 43: 852-457.
- [6] Huang AH, Motlekar NA, Stein A, et al. High-throughput screening for modulators of mesenchymal stem cell chondrogenesis. *Ann Biomed Eng*, 2008, 36: 1909-1921.
- [7] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 1999, 284: 143-147.
- [8] Mok PL, Leong CF, Cheong SK. Isolation and identification of putative mesenchymal stem cells from bone marrow. *Malays J Pathol*, 2003, 25: 121-127.
- [9] Bassett CA, Pawluk RJ, Pilla AA. Augmentation of bone repair by inductively coupled electromagnetic fields. *Science*, 1974, 184: 575-577.
- [10] Hargus G, Kist R, Kramer J, et al. Loss of Sox9 function results in defective chondrocyte differentiation of mouse embryonic stem cells in vitro. *Int J Dev Biol*, 2008, 52: 323-332.
- [11] Hattori T, Coustry F, Stephens S, et al. Transcriptional regulation of chondrogenesis by coactivator Tip60 via chromatin association with Sox9 and Sox5. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36:3011-3024.
- [12] Han Y, Lefebvre V. L-Sox5 and Sox6 drive expression of the aggrecan gene in cartilage by securing binding of Sox9 to a far-upstream enhancer. *Mol Cell Biol*, 2008, 28:4999-5013.
- [13] Ionescu AM, Schwarz EM, Vinson C, et al. PTHrP modulates chondrocyte differentiation through AP-1 and CREB signaling. *J Biol Chem*, 2001, 276:11639-11647.
- [14] Zuscik MJ, Gunter TE, Rosier RN, et al. Activation of phosphoinositide metabolism by parathyroid hormone in growth plate chondrocytes. *Cell Calcium*, 1994, 16:112-122.
- [15] Nicolin V, Ponti C, Baldini G, et al. In vitro exposure of human chondrocytes to pulsed electromagnetic fields. *Eur J Histochem*, 2007, 51: 203-212.
- [16] Ciombor DM, Lester G, Aaron RK, et al. Low frequency EMF regulates chondrocyte differentiation and expression of matrix proteins. *J Orthop Res*, 2002, 20: 40-50.
- [17] Sunk IG, Trattnig S, Graninger WB, et al. Impairment of chondrocyte biosynthetic activity by exposure to 3-tesla high-field magnetic resonance imaging is temporary. *Arthritis Res Ther*, 2006, 8: R106.

(修回日期:2009-02-06)

(本文编辑:松 明)

· 消息 ·

全国经颅磁刺激技术新进展研讨会暨电诊断医学技术基础培训班通知

随着神经科学与康复医学的快速发展,经颅磁刺激技术在临床上的研究与应用越来越受到重视,已成为目前国际上最为先进的康复治疗 and 神经科学研究技术之一。为了快速推广这一新兴技术,中国康复医学会电诊断专业委员会将于 2009 年 9 月 4 至 9 月 7 日与华中科技大学同济医学院附属同济医院康复医学科和《中华物理医学与康复杂志》联合举办全国经颅磁刺激技术临床应用与研究新进展研讨会,同期还将举办电诊断医学技术基础培训班。届时将邀请朱愈教授等国内外著名专家前来进行学术交流和讲座。会议结束时将授予继续教育学分。

研讨会和培训班主要内容包括:经颅磁刺激在临床上的应用及其最新进展;经颅磁刺激临床应用操作技术示范;神经传导和肌电图检查基础理论与操作技术培训;电诊断学技术在康复医学临床上的应用示例等。

参加对象:康复医学科、神经科、神经外科、骨科、精神科以及其它相关科室专业人员。

日期和地点:2009 年 9 月 4 至 9 月 7 日,武汉市华中科技大学同济医学院附属同济医院。

会务及培训费用:800 元/人。食宿统一安排,费用自理,回单位报销。

联系电话:027-83662874;传真:027-83663264;E-mail:pmr@tjh.tjmu.edu.cn;htt_0115@163.com;联系人:何婷婷。

联系地址:湖北省武汉市解放大道 1095 号同济医院内,《中华物理医学与康复杂志》编辑部