

· 基础研究 ·

脉冲电磁场对免疫磁性分选人前软骨干细胞增殖功能的影响

王俊芳 夏仁云 方煌 陈安民 尹德龙 程浩

【摘要】目的 研究脉冲电磁场对免疫磁性分选人前软骨干细胞(PSCs)增殖功能的影响。**方法** 采用酶消化法从流产胎儿下肢股骨干骺端中收集细胞,选用免疫磁性分选技术分离出PSCs;经体外扩增培养后采用流式细胞术、免疫组化、免疫荧光、RT-PCR等技术鉴定纯化后的PSCs。采用50 Hz 1 mT脉冲电磁场间断刺激纯化后的PSCs,并绘制细胞生长曲线,采用MTT法测定细胞增殖活性,采用流式细胞术检测细胞周期及细胞凋亡情况。**结果** 从流产胎儿干骺端中成功培养出细胞表面表达成纤维生长因子受体-3(FGFR-3)标记物的人PSCs;免疫磁性分选系统能有效分离纯化PSCs;PSCs经脉冲电磁场刺激4 d和6 d后,发现能明显促进细胞增殖功能($P < 0.05$),其S期细胞数量百分比较对照组显著增高($P < 0.01$),细胞早期凋亡率、晚期凋亡率及总凋亡率均较对照组明显降低($P < 0.05$)。**结论** 免疫磁性分选系统能有效分离、纯化PSCs,脉冲电磁场刺激能显著提高体外培养人PSCs增殖功能并抑制细胞凋亡。

【关键词】 前软骨干细胞; 成纤维生长因子受体-3; 细胞培养; 脉冲电磁场

The effect of pulsed electromagnetic fields on the proliferation of immunomagnetically separated human precartilaginous stem cells WANG Jun-fang, XIA Ren-yun, FANG Huang, CHEN An-min, YIN De-long, CHENG Hao. Department of Orthopaedics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan 430030, China

Corresponding author: CHENG Hao, Email: Chenghao@tjh.tjmu.edu.cn

[Abstract] **Objective** To study the biological effects of pulsed electromagnetic fields (PEMFs) on the proliferation of immunomagnetically separated human precartilaginous stem cells (PSCs) in vitro. **Methods** The cells from an aborted fetus's metaphysis were digested using collagenase. The PSCs were isolated by magnetic cell sorting (MACS), then subcultured and amplified. Flow cytometry, immunohistochemistry, immunofluorescence and RT-PCR analysis were performed to identify the purified PSCs. The PSCs were stimulated by PEMFs at 50 Hz frequency and 1 mT intensity. Cell proliferation was measured at different time points using methyl thiazolyl tetrazolium (MTT), and the cell growth curve was plotted. Flow cytometry was applied to measure the cell cycle and apoptosis. **Results** The PSCs were successfully cultured. There was fibroblast growth factor receptor-3 (FGFR-3) on their surface. Cell proliferation was promoted after 4 and 6 days of PEMF stimulation. The percentage of cells at the S phase was higher than in a control group. Early, late and total rates of apoptosis in the experimental group decreased significantly. **Conclusion** PEMFs can enhance the proliferation and inhibit the apoptosis of human PSCs, and it is possible to cultivate the high density human PSCs in vitro.

【Key words】 Precartilaginous stem cells; Fibroblast growth factor receptor-3; Cell culture; Pulsed electromagnetic fields

近年来研究发现,在胚胎四肢干骺端骺板周围环形软骨膜组织(该部位又称La Croix环)中存在着一种成体干细胞,被称为前软骨干细胞(precartilaginous stem cells,PSCs),该细胞能表达特异性成纤维细胞生长因子受体-3(fibroblast growth factor receptor-3,FGFR-3)^[1],并且PSCs在体外有持续增殖及定向分化能力;然而La Croix环中PSCs含量非常低,必须经体外分离

纯化、扩增培养后才能满足组织工程及细胞治疗需求。有研究发现,特定强度脉冲电磁场(pulsed electromagnetic fields,PEMFs)作用能促进活细胞增殖及细胞转化,对细胞增殖具有调控功能^[2]。本研究在体外分离、培养、纯化PSCs基础上,观察PEMFs对其增殖功能的影响,以期在体外分离培养出高丰度的PSCs,为后续临床应用奠定基础。现报道如下。

材料与方法

一、实验材料

PSCs取自经孕妇知情同意的8~16周人流产胎

儿下肢股骨干骺端组织;主要实验仪器包括:FACSort 流式细胞仪(BD 公司产品,美国)、CO₂ 孵育箱(Forma Scintific 公司产品,美国)、倒置生物相差显微镜(Olympus CK-24 型,日本),超低温冰箱、荧光显微镜、PEMFs 发生器由海军工程大学电力电子技术应用研究所研制;主要实验试剂包括:DMEM-F12、胎牛血清(Gibco 公司产品,美国),I 型胶原、牛胰蛋白酶(Sigma 公司产品,美国),miniMACS 磁性细胞分离系统及相关试剂(Militenayi 公司产品,德国),小鼠抗人 FGFR-3 单克隆抗体、山羊抗小鼠 FITC 荧光二抗(Ebioscience 公司,美国),免疫组化试剂盒、RT 试剂盒(北京中山生物技术公司产品)。

二、实验方法

(一) La Croix 环细胞原代培养及 PSCs 流式细胞仪鉴定

1. La Croix 环细胞原代培养:取孕 8~16 周流产胎儿,按 Robinson 等^[1]报道的方法进行取材,在手术显微镜下($\times 10$ 倍)可见胎儿下肢股骨干骺端半透明骺板被一薄层软组织覆盖,这层软组织即为 La Croix 环。La Croix 环位于骺板上方 1.5 mm 至下方 0.5 mm 区域内,厚约 0.5 mm。用显微镊子钝性剥离 La Croix 环,经 PBS 液漂洗 3 次后用显微器械将其剪成 1 mm \times 1 mm \times 1 mm 小块,用 0.25% 胰蛋白酶消化 5 min,离心(200 $\times g$)8 min 后弃上清液;用 0.1% I 型胶原酶消化过夜,经 100 目滤网过滤去除未消化组织块,将悬液离心(200 $\times g$)8 min 后弃上清液;采用 PBS 液悬浮细胞,将悬液离心(200 $\times g$)8 min 后弃上清液;用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基悬浮沉淀细胞,调整细胞密度为 1×10^6 个/ml,接种于 250 ml 培养瓶中培养 48 h。

2. PSCs 流式细胞仪鉴定:取培养 48 h 且生长良好的 La Croix 环细胞,经消化后采用细胞计数板计数每样本细胞量大约为 2×10^5 个,经 PBS 液重悬于上样试管中,共制成 2 个样本;经 PBS 液洗涤 1 次后,分别加入 FGFR-3 单克隆一抗,置冰上孵育 45 min;经 PBS 液洗涤 1 次后,再加入异硫氰酸荧光素标记的荧光二抗,于室温(30 min)环境下经 PBS 液洗涤 1 次,再经 400 μl PBS 液重悬,上流式细胞仪检测 La Croix 环细胞中 PSCs 含量,同时将 PBS 液作为一抗设置阴性对照。

(二) PSCs 的分离纯化及培养传代

1. PSCs 的分离纯化:采用 miniMACS 磁性细胞分选系统分离纯化 PSCs。将培养 48 h 且生长良好的 La Croix 环细胞常规消化离心后,用 1 000 μl Buffer 液(含磷酸盐缓冲液、5 g/L 牛血清白蛋白及 2 mmol/L 乙二胺四乙酸,pH 值为 7.2)悬浮,按每 1×10^7 个细胞加入 20 μl 小鼠抗人单克隆抗体 FGFR-3,于冰上孵

育 45 min 后离心(200 $\times g$)10 min,经缓冲液洗涤 1 次后再加入 50 μl 山羊抗小鼠 IgG 免疫磁珠及 500 μl Buffer 液,于冰上孵育 30 min、离心(200 $\times g$)10 min 后收集细胞;再用 500 μl Buffer 液悬浮,经 30 μm 过滤器去除聚集细胞团后制成单细胞悬液,然后加入阳性选择柱;待细胞悬液完全通过分离柱后,用同体积 Buffer 液冲洗 3 次,将分离柱移离磁场,用 2 倍体积的 Buffer 液快速冲洗分离柱,被洗脱的细胞即为阳性 PSCs 细胞。

2. PSCs 原代培养及传代:采用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基培养分离提纯的 PSCs,选用倒置相差显微镜观察原代细胞生长情况,待细胞接近融合(约培养 10~14 d)时消化传代,直至贴壁细胞彼此融合、铺满瓶底。重复上述操作反复传代、扩增,并标记为 P1(Passage 1)至 P5(Passage 5)等,当传至第 3 代时进行鉴定。

(三) PSCs 的免疫细胞学鉴定

取生长良好的第 3 代细胞,按 1×10^4 个/ml 接种于含玻片 6 孔板上,培养 5 d 后取出细胞爬片。免疫组化及免疫荧光染色步骤同上,也采用 PBS 液作为一抗设置阴性对照,通过检测细胞表面 FGFR-3 表达水平从而鉴定 PSCs 纯度。

(四) PSCs 特异性标志物 FGFR-3 mRNA 检测

取生长良好的第 3 代细胞,采用 Trizol 试剂裂解细胞,抽提细胞总 RNA,测定 RNA 浓度,采用 RT 试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA。针对人类 FGFR-3 基因序列设计引物,选用 PCR 技术检测细胞 mRNA 基因表达水平。引物序列如下:sense 5'-GGGCTTCTTCCTGT-TCATCC-3', anti-sense 5'-GTGGCATCGTCTTCAG-CATCT-3'。反应条件如下:预变性温度 94 °C,持续 5 min;变性温度 94 °C,持续 1 min;退火温度 53 °C,持续 1 min;延伸温度 72 °C,持续 1 min;共循环 30 次;最后延伸温度 72 °C,持续 10 min,应得的扩增片段为 402 bp。

(五) PEMFs 辐射及相关生物学分析

1. 实验分组及 PEMFs 处理:取生长良好的第 3 代 PSCs 细胞,将其随机分为实验组及对照组。对照组置于 5% CO₂ 培养箱(湿度为 100%,37 °C)中培养,实验组细胞于传代次日即给予曝磁处理,曝磁方法如下:将细胞置于频率为 50 Hz、强度为 1 mT 的正弦电磁场发生器线圈中央,每日曝磁处理 2 次,每次 30 min,间隔时间为 12 h,其余时间处理与对照组一致,均置于同类型 CO₂ 培养箱中培养。

2. PSCs 生长曲线绘制:取第 3 代细胞按 1×10^4 个/孔接种于 24 孔板中,于倒置相差显微镜下观察细胞生长情况,记录贴壁时间、细胞形态及分裂情况。从

曝磁次日起,每日从实验组及对照组中各取 3 孔,用质量分数为 0.25% 胰蛋白酶消化后计数,取均值并绘制生长曲线,按以下公式计算细胞群体倍增时间 (population doubling time, PDT), $PDT = [\log_2 / (\log N_t - \log N_0)] \times t$, 其中 N_0 和 N_t 分别代表接种时和培养 t 小时后的细胞数量。

3. PSCs 增殖活性检测: 将第 4 代细胞以 1×10^3 个/孔接种于 96 孔培养板中, 分别于曝磁处理后第 2, 4, 6 天时采用 MTT 法检测各组骨髓干细胞存活及增殖能力, 选用 ELX2800UV 型酶标仪检测各孔在波长为 490 nm 时的吸光度值。

4. 细胞周期及细胞凋亡检测: 取实验组及对照组第 4 代细胞, 于接种后第 6 天生长状况良好时消化离心, 调整悬浮细胞密度为 1×10^6 个/ml, 经荧光染料溴化丙啶溶液避光染色后, 采用流式细胞仪 (488 nm 波长) 检测, 可获得 DNA 含量分布直方图及细胞凋亡比例数值。采用增殖指数 (proliferation index, PI) 分析 PEMFs 对 PSCs 分裂增殖水平的影响, 同时进行 DNA 倍体分析, $PI = [(S + G2/M) / (G0/G1 + S + G2/M)] \times 100\%$ 。

三、统计学分析

本研究所得计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 采用 SPSS 11.5 版统计学软件包进行数据分析, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、La Croix 环细胞中 PSCs 流式细胞仪检测结果分析

经流式细胞仪检测及 Cell Quest 软件分析, 显示 PSCs 数量仅占 La Croix 环细胞总量的 3.62% (图 1), 表明 FGFR-3 阳性细胞在 La Croix 环细胞中所占比例较小, 有必要通过磁性细胞分选系统分离纯化 PSCs。

二、La Croix 环细胞原代培养及 PSCs 分离纯化培养结果分析

纯化前的 La Croix 环细胞形态及大小很不一致; 将经免疫磁珠分选系统纯化的 PSCs 细胞接种培养 24 h 后, 可见三角形、短梭形细胞散在分布, 折光性好, 表面颗粒少, 胞核明显, 胞质丰富、清晰; 生长期细胞分裂相多见, 接种培养 4~5 d 后部分区域形成细胞团簇 (图 2), 接种培养 10 d 后细胞融合成片, 当传至第 5 代时, 有部分细胞变成长梭形。

三、PSCs 的免疫细胞学检测结果分析

通过免疫组化及荧光染色技术对细胞爬片分析后发现, 第 3 代 PSCs 细胞膜表面表达特异性标志物 FGFR-3 (图 3), 胞核呈空泡状, FGFR-3 阳性细胞数量占细胞总数的 95% 以上。

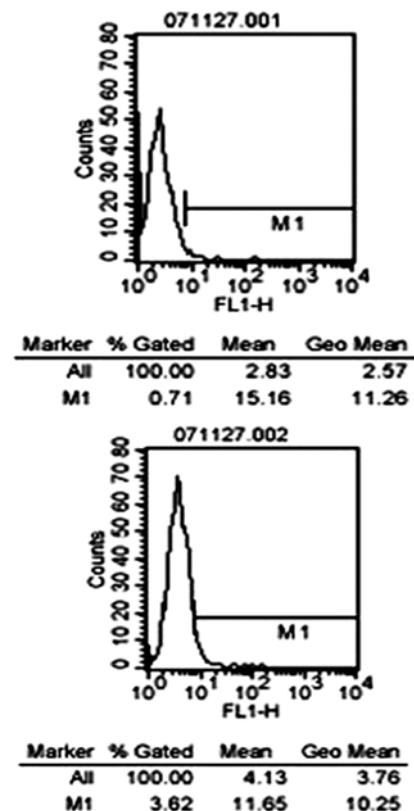


图 1 FGFR-3 阳性细胞 (PSCs) 仅占取材细胞数量的 3.62%; 阴性对照(上)与阳性标记(下)

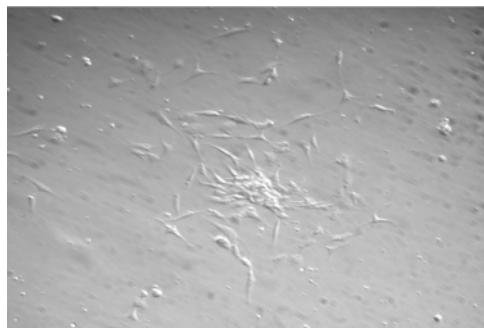
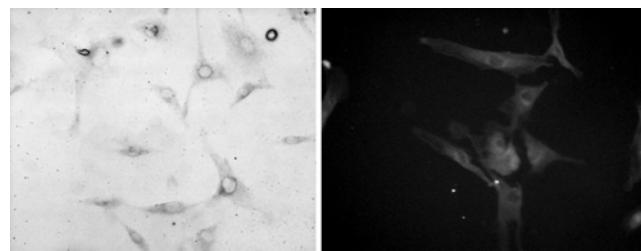


图 2 原代 PSCs 经培养 4 d 后, 可见局部区域呈集落样生长, 细胞形态以三角形、短梭形为主 ($\times 10$)



注: 左边为免疫组化染色, 右边为免疫荧光染色
图 3 第 3 代 PSCs 细胞呈 FGFR-3 阳性表达反应 ($20 \times$)

四、PSCs 特异性标志物 FGFR-3 mRNA 表达结果分析

从第 3 代 PSCs 抽提的 RNA 经 RT-PCR、2.0% 琼

脂糖电泳后,发现有特异性条带形成,与 DNA 标记物比较,位于 300~500 bp 之间,与 PCR 扩增应得片段大小(402 bp)相吻合(图 4),表明 PSCs 存在 FGFR-3 转录水平表达。

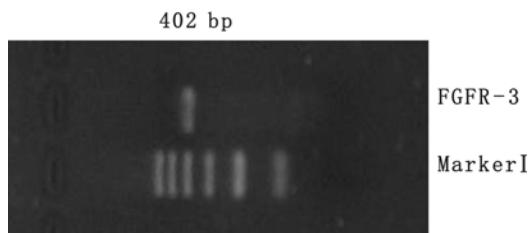


图 4 PSCs 呈现 FGFR-3 mRNA 阳性表达

五、PEMFs 辐射对 PSCs 细胞生物学的影响

1. PSCs 生长曲线绘制:通过倒置相差显微镜观察发现,PSCs 贴壁完成时间约为 4~7 h,细胞形态呈上皮样排列,单层贴壁生长,极少出现重叠生长现象。实验组 PSCs 经 PEMFs 刺激后,发现其细胞密度增加速度在细胞融合成单层前明显快于对照组,测得实验组细胞数量在培养第 6 天时达到峰值,随后进入平台期,分裂指数为 38%;另外经计算后发现实验组细胞群体倍增时间为 23.43 h,对照组为 31.45 h,具体情况详见图 5。

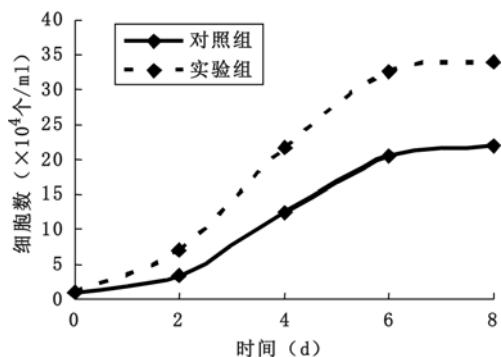


图 5 脉冲电磁场对 PSCs 生长曲线的影响

2. PSCs 增殖活性分析:经 PEMFs 干预 2 d 后,发现实验组细胞增殖活性与对照组间差异无统计学意义($P > 0.05$);经 PEMFs 干预 4 d 及 6 d 后,发现实验组细胞增殖活性明显高于对照组,组间差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),具体数据详见表 1。

表 1 PEMFs 对 PSCs 增殖活性的影响($\bar{x} \pm s$)

组 别	培养 2 d 时	培养 4 d 时	培养 6 d 时
实验组	0.384 ± 0.213	0.524 ± 0.157^a	0.641 ± 0.161^a
对照组	0.372 ± 0.126	0.413 ± 0.053	0.532 ± 0.163

注:与对照组比较, $^aP < 0.05$;表中数据为各组细胞在波长为 490 nm 时的吸光度值

3. PSCs 细胞周期和细胞凋亡结果分析:经流式细胞仪检测发现,实验组 PSCs 经 PEMFs 刺激后,其细

胞周期发生明显改变,如 S 期细胞数量百分比对照组显著增高($P < 0.05$),具体数据详见表 2;未发现有 DNA 倍体异常细胞;实验组 PSCs 细胞早期凋亡率、晚期凋亡率和总凋亡率均显著低于对照组水平($P < 0.01$ 或 0.05),具体数据详见表 3。

表 2 PEMFs 作用后各期 PSCs 比例和 PSCs 增殖指数

组 别	G0 + G1 期(%)	S 期(%)	G2 + M 期(%)	PI
实验组	62.61 ± 0.34	29.37 ± 0.53^a	8.02 ± 0.46	37.39 ^a
对照组	81.65 ± 0.23	14.54 ± 0.53	3.81 ± 0.34	18.35

注:表中数据为各周期细胞数量所占百分比;与对照组比较,^a $P < 0.05$

表 3 PEMFs 对 PSCs 细胞凋亡率的影响(%)

组 别	早期凋亡率	晚期凋亡率	总凋亡率
实验组	1.89 ± 0.21^a	1.54 ± 0.17^a	3.43 ± 0.16^a
对照组	3.74 ± 0.23	2.73 ± 0.43	6.47 ± 0.37

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$

讨 论

由于关节软骨缺损很难自然修复,故软骨损伤患者疗效通常欠佳,并且临床对此尚无特别有效治疗手段。有学者主张采用软骨细胞和骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)对关节软骨缺损进行修复,但效果均不够理想^[3, 4]。有研究表明,PSCs 是能控制动物肢体骨骼生长的间充质样干细胞,在软骨生长、软骨内化骨、关节软骨损伤修复等方面均发挥着重要作用^[1]。针对 PSCs 的研究可能有助于临床治疗关节软骨缺损等疾病,然而 PSCs 在 La Croix 环细胞中含量非常低,本研究结果也证明 PSCs 只占取材细胞整体数量的 3.62%,因此有必要对其进行分离纯化及扩增处理。

本研究采用的 miniMACS 磁性细胞分选系统具有分选效率高、操作简便、耗时短、纯度及回收率高等优点,该分选系统的磁珠直径为 50 nm,体积很小,标记细胞上的微型磁珠即使在电镜扫描照片上也无法看到,所以不会对细胞造成明显机械压力效应;另外微型磁珠的成分(主要为氧化铁和多糖)也不会对细胞产生化学刺激,同时容易被生物降解,在与细胞结合及分选过程中,细胞生理功能均不会受到影响,分选后磁珠亦不需要去除,可立即用于后续各项实验研究^[5, 6]。本实验结果也证实,分选后的 PSCs 细胞活性良好,各项细胞生物学性状稳定,细胞膜表面仍可见特异性标志物 FGFR-3 表达,表明 miniMACS 磁性细胞分选技术是一种比较理想的 PSCs 分离、纯化的物理方法。

近年来 PEMFs 作为一种非侵入性干预手段,在治疗骨不连及其他骨科疾病方面已被证实具有显著疗效^[7, 8],另外针对电磁场细胞生物学效应的微观层面

研究也引起人们广泛关注。Heredia 等^[9] 将人外周血置于 60 Hz 正弦磁场(磁场强度分别为 1.0、1.5 及 2.0 mT)中,经培养 1 周后发现磁场作用能刺激淋巴细胞增殖。Sikavitsas 等^[10] 采用旋转生物反应器大规模体外培养、扩增 MSCs,1 周后发现 MSCs 增殖数量较静置培养组多 60%;另外还有大量研究证实,低能量 PEMFs 能有效促进细胞增殖活性,而长时间、高强度磁场作用则会产生一系列副作用;Lee 等^[11] 认为,最有效的电磁场频率应接近机体正常活动时的频率范围,而骨骼系统的内生性活动频率范围在步态频率(1~5 Hz)及肌肉收缩动力频率(10~100 Hz)间变化,因此本研究采用频率为 50 Hz、磁场强度为 1 mT 的正弦波 PEMFs 间断刺激 PSCs,经 MTT 法检测后发现该磁场能显著促进 PSCs 增殖活性,并且经流式细胞仪检测细胞周期后发现,PSCs 细胞周期也发生显著改变,如 S 期细胞数量所占百分比较对照组水平明显增高,与 MTT 法检测结果一致,提示 PEMFs 能通过促进 DNA 合成进而引发细胞增殖效应;另外本研究观察到 PSCs 经 PEMFs 作用后,其凋亡率明显下降,表明 PEMFs 能在一定程度上抑制细胞凋亡,这可能也是 PEMFs 促细胞增殖的重要原因之一。在本研究观察过程中,未发现 PEMFs 辐射能导致细胞 DNA 异常,提示低强度 PEMFs 辐射不会诱发细胞恶变,临床使用安全、可靠。

综上所述,本研究结果表明,免疫磁性分选系统能有效分离、纯化 PSCs;PEMFs 辐射能显著加快体外培养 PSCs 的生长速度,提高增殖功能,并能有效抑制细胞凋亡,为临床应用 PEMFs 治疗软骨损伤提供了实验依据。

参 考 文 献

- [1] Robinson D, Hasharoni A, Cohen N, et al. Fibroblast growth factor receptor-3 as a marker for precartilaginous stem cells. Clin Orthop, 1999, 367:163-175.
- [2] Lee RC, Canaday DJ, Doong H. A review of the biophysical basis for the clinical application of electric fields in soft tissue repair. J Burn Care Rehabil, 1993, 14:319-335.
- [3] Tatebe M, Nakamura R, Kagami H, et al. Differentiation of transplanted mesenchymal stem cells in a large osteochondral defect in rabbit. Cyotherapy, 2005, 7:520.
- [4] Jin XB, Luo ZJ, Wang J. Treatment of rabbit growth plate injuries with an autologous tissue-engineered composite. An experimental study. Cells Tissues Organs, 2006, 183:62-67.
- [5] De WE, Coutinho LH, Pei X, et al. Comparison of purity and enrichment of CD34+ cell of bone marrow, umbilical cord and peripheral blood using five separation systems. Stem Cells, 1995, 13:524-532.
- [6] Sauvageau G, Iscove NN, Humphries PK. In vitro and in vivo expansion of hematopoietic stem cells. Oncogene, 2004, 23:7223-7232.
- [7] Woodbury D, Schwarz ET, Prockop DJ, et al. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. J Neurosci Res, 2000, 61:364-367.
- [8] Chang K, Chang WH. Pulsed electromagnetic fields prevent osteoporosis in an ovariectomized female rat model: a prostaglandin E2-associated process. Bioelectromagnetics, 2003, 24:189-198.
- [9] Heredia RJ, Rodriguez DL, Fuente AO, et al. Cytological effects of 60 Hz magnetic fields on human lymphocytes in vitro: sister-chromatid exchanges, cell kinetics and mitotic rate. Bioelectromagnetics, 2001, 22:145-149.
- [10] Sikavitsas VI, Bancroft GN, Mikos AG. Formation of three-dimensional cell/polymer constructs for bone tissue engineering in a spinner flask and a rotating wall vessel bioreactor. J Biomed Mater Res, 2002, 62:136-148.
- [11] Lee JH, Mcleod KJ. Morphologic responses of osteoblast-like cells in monolayer culture to ELF electromagnetic fields. Bioelectromagnetics, 2000, 21:129-136.

(收稿日期:2008-08-29)

(本文编辑:易 浩)

· 短篇论著 ·

综合物理因子治疗膝关节滑膜炎的临床疗效观察

高维亮 侯延丽 郝龙

膝关节滑膜炎多是膝关节病变的早期表现,以膝关节创伤性关节炎、骨性关节炎及类风湿性关节炎多见,其早期有效的治疗对减缓病变发展、降低致残率及改善关节功能有重要的意义。我们应用综合物理因子治疗该病,取得较好的疗效,现报道如下。

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2009.05.004

作者单位:716000 延安,延安大学附属医院疼痛康复科(高维亮、郝龙);延安大学医学院药理学教研室(侯延丽)

一、资料与方法

选取 2006 年 1 月至 2007 年 12 月在我科治疗的单膝关节滑膜炎患者 62 例作为分析对象。患者临床表现为膝关节疼痛、肿胀,在膝关节屈伸活动时疼痛加重,甚至疼痛难忍,浮髌试验阳性;如关节肿胀严重,可行关节腔穿刺,能抽出清亮淡黄色液体,实验室检验无脓细胞,细菌培养阴性;同时排除感染性关节炎和肿瘤,即可确诊^[1]。

将患者随机分为治疗组 32 例和对照组 30 例,2 组性别、年龄、病程、滑膜炎类型等经比较,差异均无统计学意义 ($P >$