

射频热疗对兔膝骨关节炎形成过程中Ⅱ型胶原表达的影响

傅照华 赵娇娇 张飞 武永飞 曹青青 孔娇 周春娟

【摘要】 目的 探讨射频热疗对兔膝骨关节炎形成过程中Ⅱ型胶原表达的影响。**方法** 选取雄性家兔 54 只,采用改良 Hulth 造模法将其右后肢制成实验性膝关节炎模型。待造模成功后,将上述实验兔随机分为模型组、鹿瓜多肽组及射频热疗组。鹿瓜多肽组于制模后给予鹿瓜多肽肌肉注射,射频热疗组于制模后给予射频热疗治疗,模型组制模后未给予特殊处理。于治疗 7 d、13 d 及 19 d 时每组分别取 6 只实验兔处死,取右侧股骨内侧髌软骨,采用改良 Mankins 评分对其进行形态学评分;同时采用实时定量 PCR 技术检测各组实验兔右侧股骨内侧髌软骨组织Ⅱ型胶原含量。**结果** 经相同天数治疗后,发现模型组、鹿瓜多肽组及射频热疗组右侧股骨内侧髌软骨 Mankins 评分依次降低,软骨组织Ⅱ型胶原含量依次增高,组间差异均具有统计学意义($P<0.05$)。射频热疗组随着治疗时间延长,其 Mankins 评分逐渐降低,软骨组织中Ⅱ型胶原含量逐渐增高,各时间点间差异均具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 射频热疗治疗兔膝骨关节炎的疗效明显优于鹿瓜多肽,其治疗机制可能与显著增加软骨中Ⅱ型胶原含量有关。

【关键词】 膝骨关节炎; 射频热疗; Ⅱ型胶原; 实验兔

基金项目:内蒙古自治区自然科学基金项目(2013MS1101)

The effects of radiofrequency heating on type II collagen formation in the osteoarthritic knee Fu Zhaohua^{*}, Zhao Jiaojiao, Zhang Fei, Wu Yongfei, Cao Qingqing, Kong Jiao, Zhou Chunjuan. ^{*} Department of Rehabilitation Medicine, Inner Mongolia Steel Hospital, Baotou 014010, China
Corresponding author: Fu Zhaohua, Email: fuzhaohua66@163.com

【Abstract】 Objective To explore the effect of radiofrequency heating on type II collagen expression in a rabbit model of osteoarthritis. **Methods** Knee osteoarthritis was induced in the right hind legs of 54 male rabbits using modified Hulth modeling. The rabbits were randomly divided into a model group which was not given any special treatment, a Lugua polypeptide group and a radiofrequency hyperthermia group. The Lugua polypeptide group was injected with Lugua polypeptide; the radiofrequency hyperthermia group was treated with radiofrequency irradiation. Six, 12 and 18 days after the treatment, the morphological condition of the rats' right femoral medial condyle cartilages were evaluated using modified Mankins scoring and the type II collagen content of the cartilage was detected using a quantitative PCR technique. **Results** At the same time points after treatment, the average Mankins scores were decreased in all the 3 groups, with that of the model group was significantly higher than those of both of the other groups, and the radiofrequency hyperthermia group's average score was significantly better than that of the Lugua polypeptide group. The average type II collagen content was significantly increased in all the 3 groups to various extent (the radiofrequency hyperthermia group > Lugua polypeptide group > model group). For the radiofrequency hyperthermia group, the average Mankins score decreased significantly and the average type II collagen content increased significantly as the treatment continued. **Conclusion** Radiofrequency hyperthermia is superior to Lugua polypeptide for treating knee osteoarthritis, at least in rabbits. Its therapeutic effectiveness may be related to a significant increase of type II collagen in the cartilage.

【Key words】 Osteoarthritis; Radiofrequency irradiation; Hyperthermia; Type II collagen; Rabbits

Fund program: Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (grant 2013MS1101)

骨关节炎 (Osteoarthritis, OA) 是一种以关节软骨退行性变、继发性骨质增生为主要特征的慢性退变性关节疾病, 发病过程中最主要特点是关节软骨进行性丢失^[1]。胶原是细胞外基质的重要组成部分, 其中 II 型胶原占总胶原含量的 80%~95%, 其质和量的改变是关节软骨丧失正常生物力学特性的直接原因^[2-3]。目前临床治疗膝 OA 较棘手, 缺少特效治疗手段。近年逐渐发展起来的射频热疗技术具有诸多优越性, 在临床应用中发现能显著减轻膝 OA 患者症状, 但其确切治疗机制不详^[4]。鹿瓜多肽作为膝 OA 临床常用药, 具有活血化瘀、祛风通络等作用, 能改善软骨下骨髓腔内血流状态, 促使代谢废物清除, 对保护关节软骨组织具有重要价值^[5]。本研究在建立兔膝 OA 模型后分别施以射频热疗或鹿瓜多肽干预, 通过比较射频热疗、鹿瓜多肽对实验兔膝关节软骨形态及关节软骨 II 型胶原含量的影响, 旨在探讨射频热疗治疗膝 OA 的相关机制。

材料与方 法

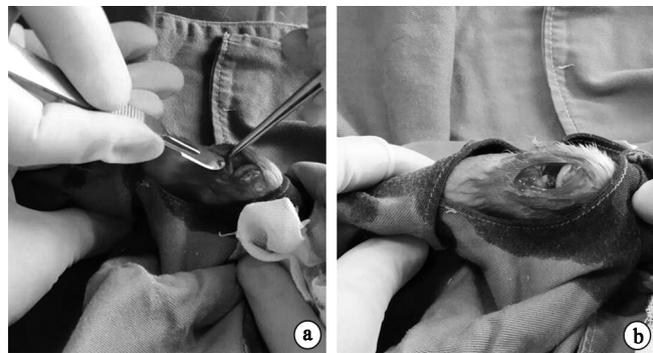
一、主要实验材料

本研究实验动物为雄性家兔, 共 54 只, 由北京市通州实验动物养殖厂提供 (动物合格证号: 2000 第 013 号清洁级), 实验兔体重 (2.50 ± 0.25) kg, 6 月龄, 均单笼单只饲养于内蒙古医科大学第三附属医院实验动物中心。本研究主要实验材料还包括兔台、止血钳、持针器、弯针、拉钩、刀柄、刀片、线剪、眼科剪、缝合线、电子秤、骨刀等; 主要实验设备包括 HG-2000 型体外高频热疗机、GNP-9080 型培养箱、CM1850 冷冻切片仪、PPTHK-21B 摊片机、7500 型实时定量 PCR 仪等; 主要实验药品包括注射用鹿瓜多肽、速眠新 II、硫酸庆大霉素注射液、10% 乙二胺四乙酸 (ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)、二甲苯、0.1 M 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS)、4% 多聚甲醛、无水乙醇、苏木素、II 型胶原酶、实时荧光定量 PCR 检测试剂盒等。

二、兔膝 OA 模型制作

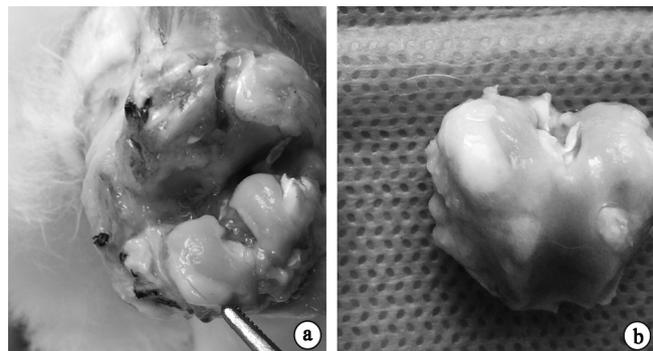
全部实验兔均单笼单只饲养于内蒙古医科大学第三附属医院实验动物中心, 饲养室保持干燥、通风、安静、温度、湿度适宜, 饲养笼尺寸可保证实验兔自由活动, 每日清理笼舍卫生, 定期紫外线消毒, 密切观察实验兔进食、活动及二便情况。在正式实验前本研究选择目前国内、外较常用的改良 Hulth 方法^[5]进行造模预实验, 选取 4 只实验兔, 通过手术切断兔膝关节前、后交叉韧带、内侧副韧带及内侧半月板 (图 1), 造成膝关节不稳定, 同时将原本外翻的膝关节变为内翻, 改变膝关节生物力线, 继而使关节软骨应力发生变化。术

后将实验兔单笼单只饲养, 其活动不受限制, 术后 6 周重新手术切开膝关节。膝 OA 造模成功标准如下: 膝关节滑膜部分呈结节样增生, 滑液量少且浑浊, 表面溃疡及裂纹形成, 部分有骨赘形成^[6], 发现预实验所有实验兔均造模成功 (见图 2)。在正式实验时将饲养 1 周后的健康实验兔应用改良 Hulth 造模法进行统一膝 OA 造模, 待麻醉程度满意后触摸实验兔右后肢膝关节内侧寻找关节间隙, 沿此关节间隙中心切长约 3 cm 纵行切口, 随后切断内侧副韧带并打开关节囊, 以尖刀沿半月板与胫骨平台间隙游离并剔除内侧半月板, 暴露并切断前交叉韧带, 经生理盐水冲洗后用碘伏再次消毒并缝合包扎。采用随机数字表法将模型兔分为射频热疗组、鹿瓜多肽组及模型组, 每组 18 只实验兔。



注: a 沿右后肢膝关节内侧寻找关节间隙, 切长约 3 cm 纵行切口, 随后切断内侧副韧带; b 打开关节囊, 剔除内侧半月板, 暴露并切断前交叉韧带

图 1 OA 制模操作要点



注: 可见关节滑膜部分呈结节样增生, 部分有骨赘形成

图 2 OA 造模成功标准

三、制模后干预

射频热疗组实验兔给予射频热疗, 采用珠海产 HG-2000 型体外热疗机, 将体外热疗机 2 个圆形电极 (直径约 20 cm) 分别置于实验兔后肢膝关节上、下部位, 电极与皮肤距离 15~20 cm, 输出功率百分比为 10%~20%, 选择谐振模式, 温度设定为 36.5~38.5 ℃。上述射频热疗每日 1 次, 每次持续 10 min, 治疗 6 次为 1 个疗程, 每疗程结束后休息 3 d。鹿瓜多肽组则按照

0.1 ml/kg 体重肌肉注射鹿瓜多肽(黑龙江迪龙制药有限公司产, 8 mg, 粉剂, 使用时按说明书将其溶于 4 ml 灭菌注射用水中), 每日注射 1 次。模型组实验兔制模后不给予特殊干预, 置于笼内自由活动。射频热疗组及鹿瓜多肽组均每天于固定时间段进行相应干预, 以保证治疗规律性。

四、标本制作及组织学观察

于射频热疗后第 7, 13, 19 天时各组分别取 6 只实验兔采用耳缘静脉空气栓塞法处死, 按先前手术入路切开膝关节囊, 暴露关节内部结构, 切断外侧副韧带及后交叉韧带, 将股骨与胫骨彻底分离, 仔细分离股骨端周围软组织, 用骨刀将股骨端离断并切取股骨内侧髁, 经流水冲洗后置于 4% 中性甲醛溶液(4 ℃)中固定 24 h。将经固定处理好的组织标本冲洗后置入 10% EDTA 脱钙液中, 每日采用 60 ℃ 恒温水浴加热脱钙液 10 h, 隔日换液, 持续 6 d 直到骨质变软至理想状态(以大头针刺骨质能刚好轻松刺入为宜)。随后用流水冲洗, 在脱钙后的标本上切取 0.5 cm×0.4 cm×0.3 cm 小块组织(包含软骨及软骨下骨), 经梯度酒精脱水、二甲苯透明、石蜡浸泡后以软骨冠状切面贴靠于包埋盒底面进行包埋。将组织标本蜡块进行不连续切片, 每个蜡块切取 6 张切片(间隔 100 μm)进行苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色。采用盲法由 2 位病理医师各取每个组织标本 3 张切片进行组织形态学观察, 每张切片选取 5 个不同视野, 主要观察术后不同时间点实验兔膝关节软骨及软骨下骨病理改变, 并参照关节软骨改良 Mankins 评分细则^[7-8]进行积分统计。

五、II 型胶原实时定量 PCR 检测

于射频热疗后第 7, 13, 19 天分别提取各组实验兔软骨组织总 II 型胶原, 参照逆转录试剂盒(武汉基因美生物科技有限公司)及 qPCR 试剂盒说明书进行 PCR 定量测定, 经组织研磨、细胞裂解、离心、洗脱等步骤提取软骨组织 RNA, 通过去除基因组 DNA、反转录等步骤进行反转录。应用 Applied Biosystems StepOnePlus Real-Time PCR System 系统通过预变性(95 ℃, 30 s, 1 个循环)、PCR(95 ℃, 5 s, 40 个循环)、溶解(95 ℃, 5 s, 1 个循环)、降温(50 ℃, 30 s, 1 个循环)等环节进行扩增。

六、统计学分析

本研究所得计量数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 采用 SPSS 20.0 版统计学软件包进行数据分析, 使用 LSD-Q 检验法, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、各组实验兔软骨组织学观察比较

射频热疗组治疗 6 d 时, 发现其软骨表层不平整,

可见不完整软骨裂隙, 软骨细胞排列成簇; 基质染色正常或轻度减退, 潮线完整(图 3); 治疗 12 d 时发现软骨表面轻度损伤, 细胞可成簇, 基质染色正常或轻度减退, 潮线不完整(图 4); 治疗 18 d 时发现软骨表面轻度损伤, 骨细胞正常排列或增多, 基质染色轻度减退, 潮线较完整(图 5)。

鹿瓜多肽组治疗 6 d 时, 可见不完整软骨裂隙, 界限不清, 软骨细胞排列成簇, 基质染色正常, 潮线较完整(图 6); 治疗 12 d 时可见软骨较大范围纤维化(达辐射层), 软骨细胞排列正常或紊乱, 基质染色轻度减退, 潮线不完整(图 7); 治疗 18 d 时可见骨组织表面局部纤维化(达移行层), 局部骨细胞过多且排列紊乱, 基质染色正常或轻度减轻, 潮线不完整(图 8)。

模型组在干预 6 d 时可见软骨纤维化及裂隙, 界限不清, 细胞成簇, 基质染色中度减退, 潮线不完整(图 9); 干预 12 d 时可见软骨纤维化(深达辐射层), 钙化层不明显, 界限不清, 软骨细胞减少, 基质染色减退, 潮线不完整(图 10); 干预 18 d 时可见骨组织表面破损、纤维化(达钙化层), 钙化层难以分辨, 骨细胞减少, 基质染色重度减退, 潮线消失(图 11)。

二、各组实验兔关节软骨组织 Mankins 评分比较

经相同天数治疗后模型组、鹿瓜多肽组及射频热疗组比较, 发现其膝关节软骨组织 Mankins 评分依次降低, 组间差异均具有统计学意义($P < 0.05$); 同一组别不同治疗天数 Mankins 评分比较, 发现随着治疗天数延长, 射频热疗组 Mankins 评分依次降低, 不同治疗天数间差异均具有统计学意义($P < 0.05$), 鹿瓜多肽组和模型组 Mankins 评分变化无明显规律, 不同治疗天数间差异无统计学意义($P > 0.05$), 具体数据见表 1。

表 1 制模后不同时间点各组实验兔软骨组织 Mankins 评分比较(分, $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	治疗 6 d	治疗 12 d	治疗 18 d
模型组	6	8.50±1.05 ^{ab}	9.83±1.47 ^a	11.50±1.87 ^{ab}
鹿瓜多肽组	6	6.83±0.75	7.00±0.89	6.00±0.63
射频热疗组	6	5.17±0.75 ^a	4.50±1.05 ^a	3.50±0.55 ^a

注: 与鹿瓜多肽组相同时间点比较, ^a $P < 0.05$; 与组内治疗 12 d 时比较, ^b $P < 0.05$

三、各组实验兔软骨组织 II 型胶原表达比较

经相同天数治疗后模型组、鹿瓜多肽组、射频热疗组比较, 发现其软骨组织 II 型胶原相对表达量依次增多, 组间差异均具有统计学意义($P < 0.05$); 同一组别不同治疗天数 II 型胶原表达量比较, 发现射频热疗组随着治疗时间延长, 其软骨组织 II 型胶原相对表达量依次增多($P < 0.05$); 模型组随着治疗时间延长, 其软骨组织 II 型胶原相对表达量下降, 但差异无统计学意义($P > 0.05$); 鹿瓜多肽组随着治疗时间延长, 其软骨

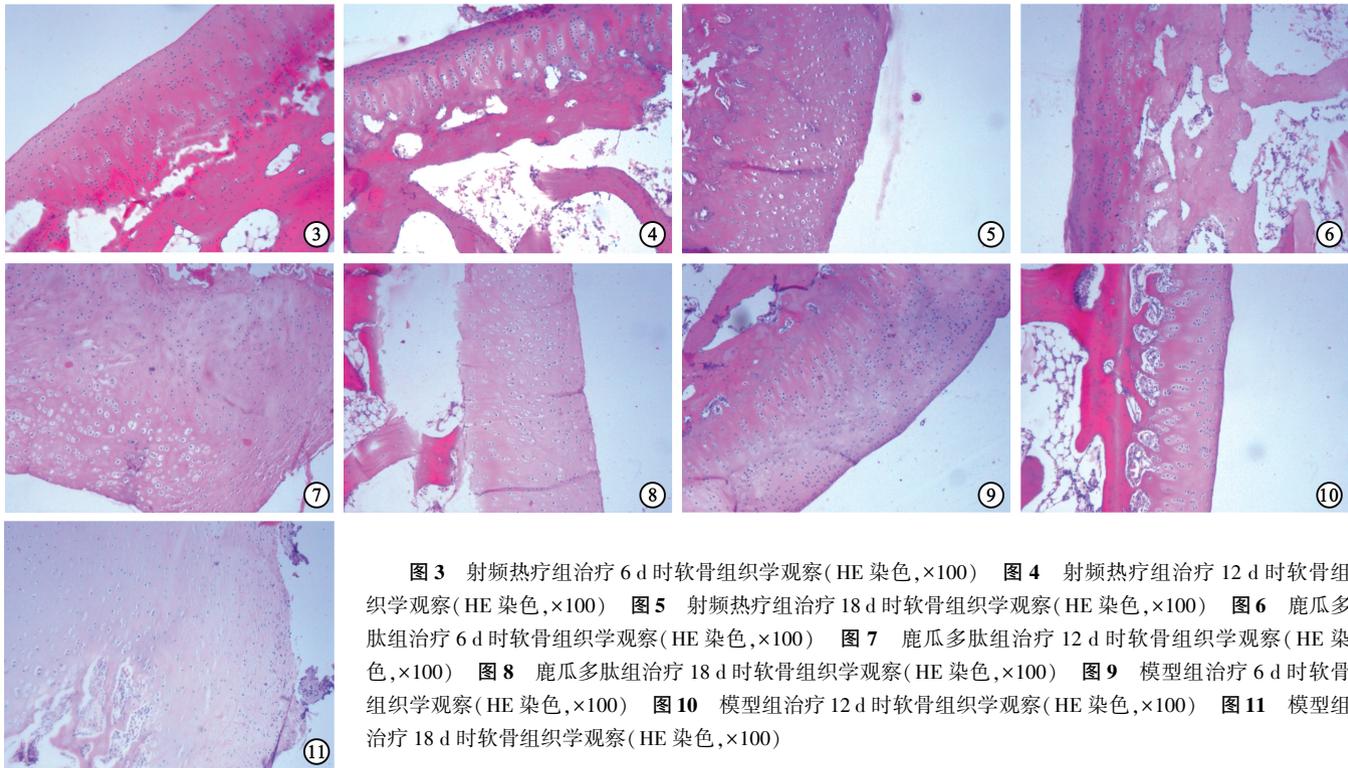


图 3 射频热疗组治疗 6 d 时软骨组织学观察(HE 染色, $\times 100$) 图 4 射频热疗组治疗 12 d 时软骨组织学观察(HE 染色, $\times 100$) 图 5 射频热疗组治疗 18 d 时软骨组织学观察(HE 染色, $\times 100$) 图 6 鹿瓜多肽组治疗 6 d 时软骨组织学观察(HE 染色, $\times 100$) 图 7 鹿瓜多肽组治疗 12 d 时软骨组织学观察(HE 染色, $\times 100$) 图 8 鹿瓜多肽组治疗 18 d 时软骨组织学观察(HE 染色, $\times 100$) 图 9 模型组治疗 6 d 时软骨组织学观察(HE 染色, $\times 100$) 图 10 模型组治疗 12 d 时软骨组织学观察(HE 染色, $\times 100$) 图 11 模型组治疗 18 d 时软骨组织学观察(HE 染色, $\times 100$)

组织 II 型胶原相对表达量有所增加,但差异无统计学意义($P>0.05$),具体数据见表 2。

表 2 制模后不同时间点各组实验兔 II 型胶原相对表达量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	治疗 6 d	治疗 12 d	治疗 18 d
模型组	6	2.32 \pm 0.25 ^{ab}	2.05 \pm 0.34 ^a	1.65 \pm 0.26 ^{ab}
鹿瓜多肽组	6	2.48 \pm 0.44	2.30 \pm 0.32	2.57 \pm 0.54
射频热疗组	6	2.64 \pm 0.60 ^a	2.73 \pm 0.19 ^a	3.03 \pm 0.45 ^a

注:与鹿瓜多肽组相同时间点比较,^a $P<0.05$;与组内治疗 12 d 时比较,^b $P<0.05$

讨 论

膝 OA 是影响人类健康最常见关节疾患之一,该疾病无明显种族或地域差异,患者主要表现为关节软骨退行性变和继发性骨质增生;随着病情进展,患者逐渐出现疼痛加重、关节僵硬及关节活动功能受限等症状,严重者可出现行走困难,其最终致残率约为 53%^[9]。II 型胶原是软骨基质的主要组成成分,对软骨发生、分化、迁移具有重要诱导作用,有利于关节软骨再生^[10]。II 型胶原在体内主要存在关节软骨中,在其它组织中的含量较低,因此可通过检测 II 型胶原水平来推测机体软骨组织变化情况^[11]。目前临床针对膝 OA 的治疗主要有药物干预、非药物干预及外科治疗等^[12],其治疗目标是控制疼痛、改善关节功能及生活质量,尽可能避免治疗毒副作用。

研究表明,射频热疗治疗膝 OA 的疗效明显优于其它物理因子治疗^[4]。关于体外射频热疗治疗膝 OA 的可能机制包括:(1)射频热疗磁场能抑制机体自由基产生,治疗时的热量能增加局部血流速度,提高新陈代谢水平,使组织内金属蛋白酶抑制剂增加,减少对 II 型胶原的破坏,有助于软骨细胞修复^[13-14]。(2)体外射频产生的高频电磁振荡能加速体内各种成分交换,有助于增强机体免疫功能、纠正酸中毒、促进炎症消退,从而达到镇痛、解痉目的^[15]。

鹿瓜多肽治疗膝 OA 也具有较好效果^[16]。鹿瓜多肽主要含有骨诱导多肽类生物因子、甜瓜籽提取物、多种游离氨基酸和有机钙磷等成分^[17],具有调节钙、磷代谢,增加骨钙沉积,防止骨质疏松以及抗炎镇痛等作用^[18]。相关研究表明鹿瓜多肽中骨诱导多肽类生物因子可有效促进机体内影响骨形成和吸收的骨源性生长因子合成^[19],从而促进成骨细胞生长,延缓骨退行性改变,减少炎性物质渗出,促进局部血液循环,是目前临床治疗骨性疾病的常用药物之一。

本研究结果显示,经相同天数治疗后,模型组、鹿瓜多肽组、射频热疗组软骨 Mankins 评分依次降低,组间差异具有统计学意义($P<0.05$),表明模型组恢复最差,鹿瓜多肽组恢复次之,射频热疗组恢复较好;另外经相同天数治疗后,发现模型组 II 型胶原含量最低,鹿瓜多肽组次之,射频热疗组最高,进一步表明射频热疗组治疗效果较好,鹿瓜多肽组次之,模型组最差。由上

述结果可知,射频热疗和鹿瓜多肽均可有效治疗膝 OA,并且以射频热疗的治疗效果更显著,其治疗机制可能与射频热疗能提高软骨组织中 II 型胶原含量有关。

参 考 文 献

- [1] 吴阶平,裘法祖.黄家驷.外科学[M].第 6 版.北京:人民卫生出版社,2008;2384.
- [2] 杨闯,周贤刚.综合康复治疗治疗膝关节骨关节炎[J].中国康复,2005,20(1):45-45.DOI:10.3870/j.issn.1001-2001.2005.01.020.
- [3] 陈崇伟,卫小春.关节软骨胶原变化与骨关节炎的关系[J].中华风湿病学杂志,2003,7(1):43-45.DOI:10.3760/j.issn:1007-7480.2003.01.013.
- [4] 傅照华,江容安.不同物理因子对膝滑膜炎 HSS 膝关节功能评分的影响分析[J].中国冶金工业医学杂志,2014,31(6):720-721.
- [5] 徐宜.鹿瓜多肽注射液对膝关节炎急性期的治疗作用及对 SOD、NO 及 MDA 的影响[J].海峡药学,2013,25(5):97-98.
- [6] 方锐,艾力江.阿斯拉,卢勇,等.兔骨性关节炎模型构建及早中晚期的特点[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(7):1218-1222.
- [7] Mankin HJ, Dofman H, Lipiello L. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips [J]. J Bone Joint Surg, 1971, 52:523.
- [8] 卫小春.关节软骨[M].北京:科学出版社,2007:106.
- [9] Tang X, Zhou Z, Shen B, et al. Serum levels of TNF- α , IL-1 β , COMP, and CTX-II in patients with Kashin-Beck disease in Sichuan, China [J]. Rheumatol Int, 2012, 32(11):3503-3509.

- [10] 陈淡媚,钟翠红,雷静,等. II 型胶原注射液对大鼠骨性关节炎的治疗研究[J].生物医学工程与临床,2013,17(6):528-533.
- [11] 付志媛,欧阳厚涂.骨炎康颗粒对膝骨性关节炎大鼠血清 II 型胶原、TGF- β 1、IL-1 β 作用的实验研究[J].中国骨质疏松杂志,2013,19(12):1275-1277.DOI:10.3969/j.issn.1006-7108.2013.12.017.
- [12] 中华医学会骨科学分会.骨关节炎诊治指南(2007 年版)[J].中国临床医生,2008,36(1):28-30.
- [13] 王锦芬,杨秀华,林华.HG-2000 体外高频热疗机治疗慢性前列腺炎的观察与护理[J].福建医药杂志,2003,25(3):20-20.DOI:10.3969/j.issn.1002-2600.2003.03.179.
- [14] Takami M, Lehmann HI, Parker KD, et al. Effect of left atrial ablation process and strategy on microemboli formation during irrigated radio-frequency catheter ablation in an in vivo model [J]. Circ Arrhythm Electrophysiol, 2016, 9(1):e003226. DOI: 10.1161/CIRCEP.115.003226.
- [15] 傅照华,郑桂杰.体外射频联合干扰电治疗腰椎间盘突出症的疗效观察[J].中华物理医学与康复杂志,2010,32(12):942-943. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2010.12.018.
- [16] 戴政文.鹿瓜多肽关节腔注射干预兔膝关节软骨退变的实验研究[D].湖北:湖北中医药大学,2011.
- [17] 陶海鹰,马永刚,陶海莉,等.松梅乐注射剂促进骨折愈合的实验研究[J].中华实验外科杂志,2003,20(9):64-65.
- [18] 刘国辉,张玉,杨述华.鹿瓜多肽临床应用的疗效观察及分析[J].中国医院药学杂志,2004,24(8):490-491.
- [19] 尚发明,游小军.鹿瓜多肽的临床应用探析[J].首都医药,2013,20(6):24.

(修回日期:2017-08-27)

(本文编辑:易浩)

《中华物理医学与康复杂志》第七届编辑委员会组成名单

顾 问: 许云影(加拿大) 吴宗耀 连倚南(中国台湾) 陈安民 南登崑 谭维溢

名誉总编辑: 郭正成

总 编 辑: 黄晓琳

副 总 编 辑: 吴毅 李玲 郭铁成 顾新 窦祖林 燕铁斌

编 辑 委 员: (按姓氏笔画排序)

尤春景 尹平 毛容秋 王伟 王刚 王彤 王强 王宁华 王冰水 王茂斌
 王亭贵(中国台湾) 王颜和(中国台湾) 邓复旦(中国台湾) 冉春风 冯珍 卢成皆(澳大利亚)
 刘宏亮 华桂茹 孙福成 朱珊珊 汤晓芙 牟翔 纪树荣 许晓冬 闫金玉 何成奇
 何成松 励建安 吴华 吴毅 宋为群 张长杰 张光宇 张志强 张继荣 张盘德
 李玲 李兴志 李红玲 李建军 李建华 李胜利 李晓捷 李常威(中国香港)
 朱愈(美国) 杨渝珍 肖农 陆再英 陈启明(中国香港) 周士枋 周谋望 岳寿伟
 林伟 范建中 郑光新 恽晓平 洪章仁(中国台湾) 倪国新 倪朝民 徐军 徐永健
 敖丽娟 袁华 贾子善 郭钢花 郭铁成 顾新 顾旭东 高晓平 梁英 梅元武
 黄真 黄东锋 黄晓琳 谢青 谢荣 谢欲晓 窦祖林 廖维靖 燕铁斌
 Bryan O'Young(美国) Sheila Purves(加拿大)