改良 Videman 法复制兔膝关节炎的实验研究

刘 晶¹, 林巧璇², 卢莉铭², 郭泽兴², 刘 洪^{1,3}, 张良志^{1,3}, 修忠标^{1,3,4*}

1 福建中医药大学附属人民医院, 福建 福州 350004;

2 福建中医药大学中医学院, 福建 福州 350122;

3 中医骨伤及运动康复教育部重点实验室, 福建 福州 350122;

4 福建省骨伤研究所, 福建 福州 350004

* 通信作者: 修忠标, E-mail: xzbdoctor@sina.com

收稿日期: 2020-02-10; 接受日期: 2020-04-16

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81873315); 福建省科技厅卫生联合面上项目(2019J01496);

国家中医临床研究基地专项科研课题(JDZX201906)

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2020.03009

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

摘要 目的:建立便捷、稳定、高效的膝关节炎(KOA)兔模型。**方法:**将 60 只健康雄性新西兰大白兔按照随机数字表法分为正常组、传统 Videman 法组(简称传统组)和改良 Videman 法组(简称改良组),每组 20 只。传统组采用普通管型石膏固定兔左膝关节伸直位 6 周进行造模;改良组依据传统组的造模原理,在膝前侧放置石膏托,予高分子石膏单层环形缠绕,固定兔左膝关节于伸直位 6 周进行造模。记录造模过程中兔石膏脱落、左后肢血运、死亡等一般情况。采用 Lequesne MG 膝关节级别评分法评估造模后兔左膝关节运动功能,X 线和 MRI 影像学检测,MOAKS 评分观察兔左膝关节间隙、关节腔积液、软骨光滑度,软骨及滑膜肉眼观、HE 染色光镜观察及 Mankin's 评分评价软骨组织形态。并比较传统组与改良组石膏固定、石膏拆卸平均耗时。**结果:**①造模一般情况比较,正常组无死亡情况;传统组石膏脱落重新固定 6 只,因会阴部感染死亡 4 只,断食死亡 1 只,下肢肿胀坏死 3 只,最后造模成功 12 只;改良组石膏脱落重新固定 2 只,因会阴部感染死亡 1 只,下肢肿胀坏死 1 只,最后造模成功 18 只。改良组造模成功率高于传统组($P<0.05$)。②行为学结果比较,与正常组相比,改良组与传统组 Lequesne MG 评分均升高($P<0.05$);改良组与传统组 Lequesne MG 评分比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。③影像学结果比较,与正常组相比,X 线示改良组与传统组关节间隙均变窄($P<0.05$),MRI 示关节腔内积液增多、股骨髁软骨面欠光滑,MOAKS 评分显著升高($P<0.05$);改良组与传统组影像学结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。④形态学方面比较,与正常组相比,软骨及滑膜肉眼观示改良组与传统组软骨面无光泽,关节面变粗糙,部分有缺损;髌前滑膜增厚,色泽发黄,软骨肉眼观评分均升高($P<0.05$);软骨 HE 染色光镜观察示软骨表层不平整,软骨细胞排列欠规整,偶见软骨细胞簇集,Mankin's 评分均升高($P<0.05$);改良组与传统组形态学比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。⑤石膏固定、石膏拆卸平均耗时比较,改良组平均耗时明显短于传统组($P<0.05$)。**结论:**改良 Videman 造模法建立 KOA 兔模型,具有操作简便、固定牢固、拆卸便利、造模成功率高等优点,有利于 KOA 机制的研究。

关键词 膝关节炎;动物模型;改良 Videman 法;软骨形态学

膝关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是指由多种因素引起的以进行性软骨损害、软骨下骨硬化、滑膜炎症为表现的最常见慢性骨关节病,临床以关节疼痛、肿大、僵硬伴关节功能障碍等为主^[1]。KOA

患病率高,全球约有 2.5 亿人患有 KOA,中国 KOA 患病率为 8.1%^[2]。目前,随着全球人口老龄化进程加快,KOA 发病率也呈上升趋势,已成为全球第四大致残性疾病^[3]。由于 KOA 发病机制尚未完全清

引用格式:刘晶,林巧璇,卢莉铭,等. 改良 Videman 法复制兔膝关节炎的实验研究[J]. 康复学报,2020,30(3):212-219.

LIU J, LIN Q X, LU L M, et al. Experimental study of modified Videman method to replicate knee osteoarthritis in rabbits [J]. Rehabilitation Medicine, 2020, 30(3): 212-219.

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2020.03009

楚,该病的临床症状经久难愈,反复发作。积极探索其发病机制,从而开发新治疗技术和治疗方法,对提高 KOA 的临床疗效具有重要作用。因此,制作稳定的、符合疾病发展规律的 KOA 理想动物模型是保证机制研究成功开展的关键环节。KOA 模型制作最常用的动物为新西兰大白兔,造模方法主要分为力学失衡法及化学药物刺激法^[4-6]。其中经典的 Videman 造模法通过伸直位固定建立膝 KOA 模型^[7],模拟了 KOA 发病过程中的软组织慢性劳损,不受手术创伤及炎症的影响,是开展实验研究的相对理想模型^[8]。然而,既往研究已表明 Videman 造模法在实践过程中存在造模时石膏固定不牢靠、下肢缺血坏死发生率高,造模结束后石膏不易拆卸等不足^[9-10]。本团队在采用 Videman 造模法建立 KOA 兔模型用于针刀干预机制研究中,也发现了同样的问题。基于此,本团队开展改良 Videman 造模法建立 KOA 模型制作的研究,通过行为学、影像学、软骨形态学特征进行模型评价,并比较 2 种造模方法的石膏固定、石膏拆卸平均耗时及造模成功率,为建立稳定、可靠、有效的 KOA 兔模型提供科学方法和理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

普通级健康雄性 6 月龄新西兰白兔 60 只,体重质量(2.0±0.5)kg,订购于上海松联实验动物责任有限公司[生产许可证号码:SCXK(沪)2017-0008],委托福建省中医药研究院实验动物中心[SYXK(闽)2016-0005]饲养。实验动物单笼喂养,饲养房温度 20~25℃,湿度 30%~60%,自然光照,自由进食、饮水。适应性饲养 1 周后,按随机数字表法随机分为正常组、传统 Videman 法组(简称传统组)和改良 Videman 法组(简称改良组),每组 20 只。

本实验已通过福建省中医药研究院动物实验伦理委员会批准(FJATCM-IAEC2019037),实验过程对动物的处置遵循科技部颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》相关规定。

1.2 主要试剂与仪器

HE 染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司);水合氯醛(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);4%多聚甲醛、10%EDTA、0.9%NaCl 注射液(南京丁贝生物有限公司);光学显微镜、自动脱水机、组织包埋机、Leica2025 石蜡切片(德国 Leica 公司);黏附载玻片、盖玻片(江苏世泰实验器材有限公司);手术刀片(上海医疗器械批发部有限公司);一次性包埋盒、包埋模具(上海源叶生物技术有限公司);高分子石膏(陕西安信医学技术开发有限公司);普通石膏(浦江健宇卫生材料有限公司);数显关节角度尺(上海三量工具有限公司);DR 机(日本岛津公司);3.0T 磁共振(德国西门子公司)。

1.3 造模方法

传统组将兔左后肢膝关节用高分子石膏管型固定于伸直位^[7]。改良组在传统 Videman 造模法的基本原理上进行改良。具体方法:① 将兔子仰卧于固定架上,助手面朝兔尾端坐下;先用 2 层脱脂棉包绕膝关节;然后右手握住实验兔左后肢踝关节并牵拉,使膝关节处于伸直中立位 0°位置;再用左手将石膏托(采用普通石膏制作,长约 8 cm,宽约 6 cm,厚度 6~8 层,提前塑型备用)放置在膝前侧,石膏托的上 1/4 中心位于髌骨中点。② 操作者立于助手的右侧,用高分子石膏绷带单层螺旋缠绕大腿根部到趾尖上 2 cm,然后塑型,保持膝关节伸直中立位 0°,踝关节背曲 60°。③ 最后使用防啃咬绷带环形缠绕高分子石膏表面,防止兔啃咬石膏。见图 1。

注:A 伸直膝关节,缠绕棉纸和膝前放置石膏托;B 环形缠绕高分子石膏,塑型膝关节伸直中立位 0°,踝关节背曲 60°;C 环形缠绕防咬胶布;D 改良法造模完成后外观图。

Note: A. To straighten knee, wrap tissue paper and place a plaster cast in front of knee; B. Circular wound polymer plaster, plastic knee straight neutral position 0°, ankle back flexion 60°; C. Loop wound anti-bite tape; D. Appearance when improved method is finished.

图 1 改良 Videman 法造模过程图

Figure 1 Schematic diagram of modified Videman modeling

1.4 指标检测及方法

1.4.1 动物一般情况观察 造模6周期间,定期观察造模期间兔一般状况,记录兔石膏脱落、左后肢血运、会阴部感染及饮食等情况。

1.4.2 石膏固定、石膏拆卸平均耗时 记录传统组与改良组石膏固定操作时间、石膏拆卸时间,计算平均完成1只兔石膏固定及拆卸所需时间并进行比较。

1.4.3 Lequesne MG 膝关节级别评分 造模结束后1 d,采用 Lequesne MG 评分^[11]评估造模前后膝关节功能,包括疼痛刺激反应(0~3分)、步态改变(0~3分)、关节活动(0~3分)、关节肿胀(0~2分)。Lequesne MG 膝关节评分总分反映膝关节功能障碍程度,总分越高,膝关节功能障碍影响越大。

1.4.4 影像学观察 造模结束后1 d,采用腹腔注射10%水合氯醛溶液(3 mL/kg)麻醉实验兔行左膝关节X线、MRI检测。X线检测方法:拍正位片取仰卧位,屈髋30°,伸膝0°,髋外展15°,保持髌骨位于正前方,放射球管距离膝关节110 mm;拍侧位片取患侧卧位,患侧(左后肢)肢体伸直,健侧(右后肢)肢体屈髋70°,屈膝45°,放射球管距离膝关节110 mm;检测参数设置为照射电压50 kV、照射电流250 mA、照射量32 mAs、照射时间128 ms。MRI检测方法:取仰卧位,膝关节处于外翻位,固定角度为15°,扫描仪中心定位于髌骨下极处。扫描序列及参数包括:① T1-tse-cor(FOV:100 mm×100 mm,ST:2 mm,TR:831 ms,TE:11 ms);② PD-tse-fs-tra(FOV:100 mm×100 mm,ST:3 mm,TR:4 930 ms,TE:20 ms);③ T2-tse-sag(FOV:100 mm×100 mm,ST:2 mm,TR:6 860 ms,TE:84 ms);④ T2-de3d(FOV:130 mm×130 mm,ST:0.6 mm,TR:19 ms,TE:9 ms)。观察造模前后左膝关节间隙、关节腔积液、软骨面光滑度等变化,磁共振膝关节骨关节炎的分级参考 MOAKS 评分^[12],包括① 关节软骨缺损:0分为无,1分为<10%,2分为10%~75%,3分为>75%;② 滑膜炎:0分为正常,1分为轻度,2分为中度,3分为重度;③ 关节积液:0分为生理量,1分为少量,2分为中量,3分为大量;④ 骨赘:0分为无,1分为轻,2分为中,3分为重;⑤ 其他关节周征象,包括鹅足滑囊炎、髌下囊信号异常、髌前囊信号异常,1分为有,0分为无。MOAKS 评分总分反映 KOA 损伤程度,

总分越高,KOA 程度越重。

1.4.5 形态学观察 于造模结束后1 d,麻醉下耳缘静脉空气栓塞处死,将实验兔放置于冰面上,迅速解剖左侧膝关节。行髌前正中切口,逐层分离软组织至关节囊,用尖刀切断股四头肌在髌骨上缘附着处的肌腱,血管钳提起髌骨上缘,沿髌骨两侧向下分离至胫骨平台,切断前后交叉韧带侧副韧带,暴露股骨髁软骨面和髌前滑膜,肉眼观察关节软骨、滑膜表面的形态、厚度以及色泽等大体的变化。软骨肉眼观评分参照 PELLETIER 等^[13]的研究:关节软骨表面光滑呈淡蓝色或无色半透明状,计0分;关节软骨表面软化但平滑,计1分;关节软骨变薄,出现小纤维束状变,计2分;关节软骨明显纤维束状变,计3分;关节软骨呈磨损性纤维束状变,伴软骨下骨外露及骨硬化,计4分。评分越高说明软骨退变越严重。然后清除股骨远端周边肌肉及韧带,用咬骨钳取下股骨远端。生理盐水清洗、滤纸吸干后投入4%多聚甲醛中固定48 h。固定后用流水冲洗标本4 h,用10%EDTA对软骨进行常规脱钙处理。脱钙完全后修切并进行常规石蜡包埋,以厚度5 μm进行组织石蜡切片制备,将组织切片置于60℃烤箱中干燥30 min后,放入二甲苯中脱蜡10 min;然后梯度乙醇溶液中人水各3 min;沥干后浸入苏木精液中染色10~20 min,蒸馏水冲洗;1%盐酸酒精分色数秒,流水冲洗20 min至水清澈;PBS返蓝,蒸馏水冲洗;入伊红染料复染1 s,使细胞质染成红色,中性树胶封片,待封片剂凝固后拍照,图像采集分析。每张片选择3个视野,参照 Mankin's 评分^[14]进行分数统计。分级标准:正常0~2分,轻度病变3~7分,中度病变8~11分,重度病变12~14分。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。计量资料服从正态分布以($\bar{x} \pm s$)表示,2组间比较采用 *t* 检验,3组间采用单因素方差分析,方差齐用 *LSD-t* 检验,方差不齐用 *Tamhane's T2* 检验;非正态分布采用秩和检验,计数资料采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3组兔造模期间一般情况比较

见表1。

表 1 3 组兔造模期间一般情况比较
Table 1 Comparison of general situation in three groups of rabbits during modeling

组 别	<i>n</i>	重新固定	会阴感染死亡	下肢坏死	断食死亡	造模成功	成功率/%
正常组	20	—	0	0	0	20	—
传统组	20	6	4	3	1	12	60.00
改良组	20	2	1	1	0	18	90.00 ¹⁾

注:与传统组比较,1) $P<0.05$ 。
Note: Compared with the traditional group, 1) $P<0.05$.

2.2 3 组兔左膝关节 Lequesne MG 评分比较
见表 2。

表 2 3 组兔左膝关节 Lequesne MG 评分比较 ($\bar{x}\pm s$) 分
Table 2 Comparison of Lequesne MG scores of left knee joint in three groups ($\bar{x}\pm s$) Scores

组 别	<i>n</i>	Lequesne MG 评分
正常组	20	0
传统组	12	7.500±1.314 ¹⁾
改良组	18	7.556±1.149 ¹⁾

注:与正常组比较,1) $P<0.05$ 。
Note: Compared with the normal group, 1) $P<0.05$.

2.3 3 组 X 线和 MRI 影像学比较
见图 2 和图 3。

图 2 结果提示,造模结束后 1 天,与正常组相比,改良组与传统组关节间隙均变窄($P<0.05$);图 3 结果提示,关节腔内积液增多、股骨髁软骨面欠光滑,MOAKS 评分显著升高($P<0.05$)。改良组与传统组影像学结果比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

注:与正常组比较,1) $P<0.05$ 。
Note: Compared with the normal group, 1) $P<0.05$.

图 2 3 组左膝关节 X 线检测关节间隙比较
Figure 2 Comparison of X-ray images of left knee joint space in three groups of rabbits

2.4 3 组组织形态学比较
见图 4 和图 5。

图 4 结果提示,与正常组相比,改良组与传统组软骨面无光泽,关节面变粗糙,部分有缺损,髌前滑膜增厚,色泽发黄,软骨肉眼观评分均升高($P<0.05$)。图 5 结果提示,软骨表层不平整,软骨细胞排列欠规整,偶见软骨细胞簇集,Mankin's 评分均升高($P<0.05$)。改良组与传统组的形态学比较,差异

无统计学意义($P>0.05$)。
2.5 石膏固定时间和拆卸时间比较
见表 3。

3 讨 论

理想的 KOA 动物模型能够有效地模拟疾病发展过程。目前常用的 KOA 建模方法包括关节腔内注射药物法,如注射木瓜蛋白酶法^[5];外科手术

注：与正常组比较,1) $P<0.05$ 。
 Note: Compared with the normal group, 1) $P<0.05$.

图 3 3 组兔左膝关节 MRI 检测 MOAKS 评分比较
 Figure 3 Comparison of MRI images and MOAKS scores of left knee joint in three groups of rabbits

注:箭头所示观察股骨前髌、内外侧髌软骨面;圆圈所示观察髌前滑膜。与正常组比较,1) $P<0.05$ 。
 Note: Point of the arrow is to observe anterior condyle of femur and cartilaginous surface of medial and lateral condyles; Point of circle is to observe slippery bursa before patellar. Compared with the normal group, 1) $P<0.05$.

图 4 3 组兔软骨及滑膜肉眼观评分比较
 Figure 4 Comparison of the macropathology scores of cartilage and synovium in three groups of rabbits

法,如 Hulth 法^[6];关节制动法,如 Videman 法^[7]。其中 Videman 造模法制作的 KOA 模型无关节内影响和手术创伤,更接近病情自然发展过程。研究表明 Videman 造模法固定 6 周是制作 KOA 模型的理想方法^[15-16]。但是实践中发现,传统 Videman 造模法易

造成兔下肢缺血性坏死、石膏脱落、拆卸困难等不足,其他学者也遇到类似问题^[9-10]。

为解决上述问题,改良 Videman 造模法参考传统 Videman 造模法的基本原理进行改良,具有以下 3 个特点。① 膝前放置石膏托,有效防止石膏脱落;

注:A. 正常表层软骨细胞;B. 表层软骨细胞簇集;C. 表层软骨细胞缺失;D. 正常移行细胞;E. 移行细胞簇集,排列欠规整。与正常组比较,1) $P<0.05$ 。

Note: A. Normal surface chondrocytes. B. Surface chondrocyte cluster. C. Loss of surface chondrocytes. D. Normal transitional cells. E. Transitional cells cluster with irregular arrangement. Compared with the normal group, 1) $P<0.05$.

图 5 3 组兔股骨髁软骨 HE 染色光镜观察 Mankin's 评分比较 ($\times 100$)

Figure 5 Comparison of Mankin's scores and HE staining observed by light microscope of femoral condyle cartilage in three groups of rabbits ($\times 100$)

表 3 2 组石膏固定及拆卸时间比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of fixation and disassembly time of gypsum between two groups ($\bar{x}\pm s$) min

组 别	n	石膏固定	石膏拆卸
传统组	12	13.500 $\pm$ 1.381	30.833 $\pm$ 1.850
改良组	18	4.833 $\pm$ 1.150	2.944 $\pm$ 1.162 ¹⁾

注:与传统组比较,1) $P<0.05$ 。

Note: Compared with the traditional group, 1) $P<0.05$.

因为兔髌骨底离髌关节仅 3~4 cm,只要管型石膏上缘脱离髌骨底上 1 cm 左右,兔膝关节就可以弯曲活动,影响造模效果。传统 Videman 造模法从髌部向下打石膏,用踝关节的弯曲角度(保持踝关节背曲 60°)以阻止管型石膏滑落,但实际造模过程中石膏常常向下脱落导致造模失败。分析原因考虑为兔因左后肢固定导致兔不适感而反复甩动导致脱落;另外在长期制动过程中,因为兔肌肉萎缩也可出现石膏脱落。而改良 Videman 造模法通过在膝前放置石膏托,起到良好固定作用,只要保证石膏托不滑离膝关节,就可以保证膝关节伸直位。② 使用高分子石膏,减少下肢缺血坏死率:传统 Videman 造模法使用普通石膏,成型较慢,塑型时间较长,需要叠加至一定厚度才具有固定效果,且其透气性差,影响血液循环^[9]。并且传统 Videman 造模法为了防止石膏脱落,会加压缠绕,尤其在踝关节处加压,容易导致下肢缺血性坏死^[10]。改良 Videman 造模法使用有机高分子石膏,成型快,塑型时间短,厚度薄且硬度高,耐磨损,只需要薄薄一层高分子石膏带环形缠绕塑型即可确保石膏托不滑动,缠绕中也不需要加压,从而降低下肢缺血坏死发生率。③ 石膏

拆卸容易:传统 Videman 造模法的管型石膏需要专门的切割工具进行拆卸,难度较大,耗时长,且容易损伤兔皮肤。改良 Videman 造模法仅薄薄一层高分子石膏,仅用普通钳子即可完成拆卸,方便拆卸并大大缩短拆卸时间。

本实验结果表明:改良 Videman 造模法对比传统 Videman 造模法,具有简单舒适、拆装便利、固定牢靠和造模成功率高的优点,同时能够保证与传统 Videman 造模法一致的造模质量,可作为研究 KOA 机制的理想造模方法。然而改良组也会出现石膏滑落、会阴部感染死亡和下肢肿胀坏死脱落等情况。为了提高造模成功率,总结分析了改良 Videman 造模法过程中的经验和教训,以下几点需要注意:① 石膏托制作长度 6~8 cm,宽度 5~6 cm,厚度 6~8 层为宜,放置在以膝关节髌骨为中心,髌上 2 cm 到髌下 6 cm 位置。通过测量,髌底到髌前上棘的距离为 3~4 cm,髌尖到踝关节中心的距离为 9~10 cm,因此石膏托长度最长可达 12~14 cm。但过长导致整体质量太大,限制兔髌部的活动,影响兔排尿,容易发生会阴部感染;过短容易滑落,需重打石膏,费时费力。因此本研究采取长度 6~8 cm,取得良好的效果。石膏托需要保证与大腿皮肤一定的接触面积才能稳定,测量兔子大腿平均周径为 10~12 cm,而太宽加重石膏质量,太窄容易滑动。本次研究采取石膏托宽度为大腿平均周径的 1/2,取得很好的效果。石膏托需要一定的硬度才能够起到良好的支撑作用,太厚增加石膏重量,太薄石膏容易折断。本次研究表明石膏托厚度在 6~8 层即具有良好的硬度,且不会过重影响兔髌部活动。石膏托宜放置在以

膝关节髌骨为中心,髌上 2 cm 到髌下 6 cm 位置,石膏托上缘太靠近髌关节,会影响髌部的活动,太靠近髌骨,容易出现滑落。本次实验过程中改良组就出现 1 只兔因石膏托上缘太靠近髌关节,限制兔髌部的活动,影响兔排尿而发生会阴部感染。② 缠绕高分子石膏切勿加压,尤其是在石膏托下缘处。初期打石膏特别追求石膏的牢靠,刻意在缠绕高分子石膏条时加压,尤其是担心石膏托向下滑动,故在石膏托下缘处加压缠绕,这样极容易造成下肢缺血性坏死。本次实验过程中改良组就出现 1 只兔因石膏托下缘缠绕高分子石膏条时过紧,影响下肢血液循环而出现下肢肿胀坏死。③ 高分子石膏条仅需缠绕 1 层即可。因为缠绕 1 层石膏条即可固定牢靠,不仅节约石膏费用,还透气轻便,拆卸方便。

本实验从兔左膝关节行为学、影像学、形态学角度揭示改良 Videman 造模法能够达到与传统 Videman 造模法一致的造模效果,通过对比固定与拆卸石膏操作耗时情况、造模过程中动物的死亡率,验证了改良 Videman 造模法操作简单、成功率高、死亡率低的优势,为 KOA 机制研究奠定基础。

参考文献

- [1] 中华中医药学会骨伤科分会膝痹病(膝关节炎)临床诊疗指南制定工作组. 中医骨伤科临床诊疗指南·膝痹病(膝关节炎)[J]. 康复学报,2019,29(3):1-7.
- [2] TANG X,WANG S,ZHAN S,et al. The prevalence of symptomatic knee osteoarthritis in China:results from China health and retirement longitudinal study [J]. Arthritis Rheum,2016,68(3):648-653.
- [3] CROSS M,SMITH E,HOY D,et al. The global burden of hip and knee osteoarthritis:estimates from the global burden of disease 2010 study [J]. Ann Rheum Dis,2014,73(7):1323.
- [4] MROSEK E H,LAHM A,ERGGELET C,et al. Subchondral bone trauma causes cartilage matrix degeneration:an immunohistochemical analysis in a canine model [J]. Osteoarthritis Cartilage,2006,14(2):171-178.
- [5] ROGART J N,BARRACH H J,CHICHESTER C O. Articular collagen degradation in the Hulth-Telhag model of osteoarthritis [J]. Osteoarthritis Cartilage,1999,7(6):539-547.
- [6] EVANS E B,EGGERS G W N,BUTLER J K,et al. Experimental immobilization and remobilization of rat knee joints [J]. J Bone Joint Surg Br,1960,73(5):737-758.
- [7] VIDEMAN T. Experimental osteoarthritis in the rabbit:comparison of different periods of repeated immobilization [J]. Acta Orthop Scand,1982,53(3):339-347.
- [8] 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.
- [9] 熊勇,张照庆,夏数数,等. 改良伸直位固定法建立兔膝骨性关节炎模型的研究[J]. 湖北中医学院学报,2010,12(5):19-21.
- [10] 张劲,赵亮,胡春生. 新型外固定支具建立兔膝骨性关节炎模型的研究[J]. 湖北中医药大学学报,2015,17(4):8-9.
- [11] LEQUESNE M G,MERY C,SAMSON M,et al. Indexes of severity for osteoarthritis of the hip and knee. Validation value in comparison with other assessment tests [J]. Scan J Rheumatol,1987,65:85-89.
- [12] HUNTER D J,GUERMAZI A,LO G H,et al. Evolution of semi-quantitative whole joint assessment of knee OA:MOAKS (MRI Osteoarthritis Knee Score). [J]. Osteoarthritis Cartilage,2011,19(9):1168.
- [13] PELLETIER J P,JOVANOVIĆ D,FERNANDES J C,et al. Reduced progression of experimental osteoarthritis *in vivo* by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase [J]. Arthritis Rheum,1998,41:1275-1286.
- [14] 刘刚,赵建宁. 兔膝关节早期骨关节炎模型的分期研究[J]. 中国骨与关节损伤杂志,2009,24(8):705-707.
- [15] 李琳慧,熊俊,周志刚,等. 兔膝骨关节炎模型的研究进展[J]. 江西中医药大学学报,2019,31(4):108-113.
- [16] 王岩,董本超,王颖,等. 膝骨关节炎动物模型的研究进展[J]. 生物医学工程与临床,2019,23(3):365-371.

Experimental Study of Modified Videman Method to Replicate Knee Osteoarthritis in Rabbits

LIU Jing¹, LIN Qiaoxuan², LU Liming², GUO Zexing², LIU Hong^{1,3}, ZHANG Liangzhi^{1,3}, XIU Zhongbiao^{1,3,4*}

¹ The People's Hospital Affiliated of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350004, China;

² College of Traditional Chinese Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China;

³ Key Laboratory of Orthopedics & Traumatology of Traditional Chinese Medicine and Rehabilitation, Ministry of Education, Fuzhou, Fujian 350122, China;

⁴ Fujian Institute of Orthopaedics, Fuzhou, Fujian 350004, China

*Correspondence: XIU Zhongbiao, E-mail: xzbdoctor@sina.com

ABSTRACT Objective: To establish a convenient, stable and efficient rabbit model of knee osteoarthritis (KOA). **Methods:** Sixty male New Zealand rabbits were selected as the normal group, traditional Videman method group (traditional group) and modified Videman method group (improved group) according to the random number table method, with twenty cases in each group. In the traditional group, the left knee joint was straightened for 6 weeks with ordinary tubular plaster. In the improved group, a plaster support was placed on the front of the knee and wrapped a single layer of polymer plaster in a ring. The left knee joint of the rabbit was fixed in a straight position for 6 weeks for modeling, according to the modeling principle of the traditional group. During the process of modeling, the general conditions of the falling off of the plaster, blood supply to the left hind limb and death were recorded. Lequesne MG knee grade score method was used to evaluate the left knee joint motor function of rabbits after modeling. The joint space, effusion, cartilage surface smoothness were evaluated by X-ray and MRI. The macropathology of cartilage and synovium, hematoxylin-eosin staining (HE staining) were observed by light microscope and Mankin's scores were applied to investigate morphological changes. The average time taken to fix and disassemble the plaster was compared with that of the traditional and improved groups. **Results:** 1) Comparison of the general conditions of modeling: there was no death in the normal group. In the traditional group, there were 6 cases which plaster were slipped and re-fixed, 4 cases died due to perineal infection and 1 case died from starving themselves, 3 cases that had ischemic necrosis of lower limbs, 12 cases were successfully established finally. In the improved group, the plaster was slipped and refixed in 2 cases, 1 case died of perineal infection and 1 case died of lower limb swelling and necrosis, and 18 cases were successfully modeled. The success rate of the improved group was higher than that of the traditional group ($P<0.05$). 2) Comparison of behavioral outcomes: in the comparison with the normal group, Lequesne MG knee joint evaluation method in the traditional group and the improved group were risen ($P<0.05$). There was no significant difference in Lequesne MG scores between the traditional group and the improved group ($P>0.05$). 3) Comparison of imaging results: compared with the normal group, X-rays showed a narrowing of joint space between the modified group and the traditional group ($P<0.05$). MRI showed increased fluid accumulation in the articular cavity, less smooth femoral condyle cartilage, and MOAKS score increased significantly ($P<0.05$). There was no significant difference in imaging results between the traditional group and the improved group ($P>0.05$). 4) Comparison of morphology: compared with the normal group, the cartilage and synovium of the improved group and the traditional group were observed to have dull cartilage surfaces, rough articular surfaces and some defects. The anterior patellar synovium was thickened and yellow, and the macropathology score of the cartilage was increased ($P<0.05$). HE staining of cartilage was observed by light microscopy to show that the surface of the cartilage was uneven and the chondrocytes were not arranged in an orderly manner. Chondrocyte clusters were occasionally observed, and the Mankin's scores were increased ($P<0.05$). There was no significant difference in morphology between the traditional group and the improved group ($P>0.05$). 5) Comparison of the average time taken to fix and disassemble the plaster: the average time of the improved group was significantly shorter than that of the traditional group ($P<0.05$). **Conclusion:** The KOA rabbit model established by modified Videman method has the advantages of simple operation, firm fixation, convenient disassembly and high success rate of modeling, which is conducive to the study of KOA mechanism.

KEY WORDS knee osteoarthritis; animal model; modified Videman method; cartilage morphology

DOI: 10.3724/SP.J.1329.2020.03009

更正

本刊 2020 年第 2 期第 113 页“(上接第 18 页)”应为“(上接第 102 页)”；第 144 页“(上接第 39 页)”应为“(上接第 123 页)”；第 161 页“(上接第 64 页)”应为“(上接第 148 页)”。特此更正,并向广大读者致歉。

(本刊编辑部)