

· 基础研究 ·

连续低强度超声对骨软骨体外保存的影响[△]

华真, 李众, 张学芬, 亓建洪*, 宋洪强, 周路, 熊藉培, 王凯声, 耿彩云, 张艺

(山东第一医科大学运动医学与康复学院, 山东泰安 271000)

摘要: [目的] 探究连续低强度超声 (continuous low intensity ultrasound, cLIUS) 对骨软骨体外保存的影响。[方法] 6个月龄猪股骨髁获取骨软骨标本60个, 随机分为两组, 均于DMEM培养液在4℃保存。静态组不做超声处理。超声组每天给予20 min 超声刺激, 频率42 kHz, 电功率50 W。于第14、28 d 检测细胞存活率、蛋白多糖表达、组织形态学、生物力学性能。cLIUS 刺激2 h 后检测 ERK 蛋白表达情况。[结果] 第14 d, 超声组细胞存活率显著高于静态组 [(75.5±1.8)% vs (65.6±1.5)% , $P<0.05$]; 随时间推移, 两组细胞存活率均显著下降 ($P<0.05$); 第28 d 两组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。组织学染色显示, 第14 d, 超声组组织形态结构优于静态组, 且番红 O 染色 IOD [(224.7±4.1) vs (166.5±3.7), $P<0.05$]、甲苯胺蓝染色 IOD [(223.7±6.0) vs (166.7±5.0), $P<0.05$] 均显著高于静态组; 第28 d 两组上述指标差异无统计学意义 ($P>0.05$)。随时间推移, 两组组织形态结构紊乱, 蛋白多糖显著流失 ($P<0.05$)。第14 d, 超声组杨氏模量显著优于静态组 [(8.7±0.3) MPa vs (7.0±0.0) MPa, $P<0.05$]; 第28 d 两组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。随时间推移, 两组杨氏模量显著下降 ($P<0.05$)。超声刺激2 h 后, 超声组 ERK 蛋白表达水平显著高于静态组 [(0.9±0.1) vs (0.5±0.2), $P<0.05$]。[结论] cLIUS 可以提高猪骨软骨的体外保存效果, 延长保存时间, 上调 ERK 蛋白的表达水平。

关键词: 同种异体骨软骨移植, 关节软骨, 低强度超声, 力学刺激, 细胞外调节蛋白激酶

中图分类号: R68 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2023) 22-2072-06

Effect of continuous low-intensity ultrasound on the preservation of osteochondral tissue in vitro // HUA Zhen, LI Zhong, ZHANG Xue-fen, QI Jian-hong, SONG Hong-qiang, ZHOU Lu, XIONG Jie-pei, WANG Kai-sheng, GENG Cai-yun, ZHANG Yi. College of Sports Medicine and Rehabilitation, Shandong First Medical University, Tai'an 271000, China

Abstract: [Objective] To investigate the effect of continuous low-intensity ultrasound (cLIUS) on the preservation of osteochondral tissue in vitro. [Methods] Sixty osteochondral specimens were harvested from a 6-month-old pig femur condyles and were randomly divided into two groups, which were stored in DMEM medium at 4℃, those in the static group was not treated with ultrasound, while the samples in the ultrasonic group was stimulated for 20 min every day at a frequency of 42 kHz and an electric power of 50W. The survival rate, proteoglycan expression, histomorphology and biomechanical properties were detected at the 14 th and 28 th days. The expression of extracellular regulatory protein kinase (ERK) was detected 2 hours after cLIUS stimulation. [Results] The ultrasound group got significantly higher cell survival rate than the static group at 14 days [(75.5±1.8)% vs (65.6±1.5)% , $P<0.05$], whereas which became not statistically significant between the two group at 28 days. As time went by, the cell survival rate in both groups decreased significantly ($P<0.05$). Histological staining showed that the ultrasound group was better than the static group, the former had higher the saffron O staining IOD [(224.7±4.1) vs (166.5±3.7), $P<0.05$], toluidine blue staining IOD [(223.7±6.0) vs (166.7±5.0), $P<0.05$] than the latter at 14 days, while which returned to be not significant difference between the two groups at 28 days ($P>0.05$). The tissue morphology and structure of the two groups were disordered and proteoglycan was significantly lost over time ($P<0.05$). In addition, the ultrasound group got significantly higher Young's modulus than the static group 14 days [(8.7±0.3) MPa vs (7.0±0.0) MPa, $P<0.05$], which became not significantly different either at 28 days between the two groups ($P>0.05$). The Young's modulus of the two groups decreased significantly with time ($P<0.05$). At 2 hours after ultrasonic stimulation, the ultrasonic group had significantly higher expression of ERK protein than the static group [(0.9±0.1) vs (0.5±0.2), $P<0.05$]. [Conclusion] The cLIUS improves the preservation quality of porcine bone cartilage in vitro, prolong the preservation time and up-regulate the expression of ERK protein.

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2023.22.11

[△]基金项目: 山东省自然科学基金(编号:ZR2017LH018); 山东省中医药科技项目(编号:2021M148)

作者简介: 华真, 硕士研究生, 研究方向: 软骨损伤的基础研究, (电话)18563233807, (电子信箱)hz18563233807@163.com

* 通信作者: 亓建洪, (电话)0538-8939698, (电子信箱)jhqi@sdfmu.edu.cn

Key words: osteochondral allograft, articular cartilage, low-intensity ultrasound, mechanical stimulation, extracellular regulatory protein kinase

关节软骨损伤是临床常见疾病，由于其无血管、淋巴等结构，一旦损伤，难以自我修复。目前，临床上尚无治疗软骨损伤的金标准^[1]。同种异体骨软骨移植（osteochondral allografts, OCAs）是临床上治疗大面积软骨损伤常见的治疗手段^[2]。然而 OCAs 术前通常需要 2 周时间进行微生物、病毒检测，在此过程中软骨细胞存活率将会发生滑坡式降低，严重影响 OCAs 手术的临床疗效^[3]。因此，需要改进存储方法来维持同种异体骨软骨组织（allogenic osteochondral tissue, OCT）的细胞活力，以增加高质量 OCT 的应用并改善治疗结果。

机械刺激在维持关节软骨的结构和功能方面至关重要，适度的机械刺激可以增加软骨的厚度^[4]，促进细胞外基质（extracellular matrix, ECM）成分的合成以及促进损伤关节软骨的修复^[5, 6]。相反，缺乏足够的机械刺激则会导致关节软骨萎缩^[7]。研究发现，低强度超声（low intensity ultrasound, LIUS）可以通过抑制分解代谢细胞因子和上调合成代谢因子的表达修复软骨损伤和延缓关节软骨的退化^[8, 9]。然而，在离体组织培养状态下，LIUS 刺激能否延缓 OCT 软骨细胞活性降低，抑制 ECM 的降解，延长保存时间未见相关报道。LIUS 改善软骨相关疾病的潜在机制尚不完全清楚。研究表明 LIUS 经由细胞外调节蛋白激酶（extracellular regulated protein kinases, ERK）信号通路促进修复蛋白结缔组织生长因子的表达，促进半月板损伤修复^[10]。此外 ERK 信号还参与关节软骨的发育，正向调节关节软骨的厚度^[11]。因此，本研究将连续低强度超声（continuous low intensity ultrasound, cLIUS）应用于体外保存的猪膝关节骨软骨，观察其是否能够延长骨软骨的保存时间并对 ERK 蛋白表达情况进行探索，为体外保存 OCT 提供新的策略。

1 材料与方法

1.1 骨软骨标本获取

6 个月龄猪，100 kg，碘伏消毒，铺巾。行膝关节正中切口，离断内外侧副韧带、前后交叉韧带及髌韧带，充分暴露膝关节面，直径 6.5 mm 的骨软骨移植器在膝关节股骨髁负重区取长度为 10.0 mm 的骨软骨 60 枚。

1.2 分组与体外处理

骨软骨随机分为静态组和超声组，每组 30 个。均于 DMEM 培养液在 4℃ 医用冰箱中保存。静态组不做超声处理。超声组每天给予 20 min 超声刺激，采用 CE-5200A 超声清洗器，频率 42 kHz，电功率 50 W。

1.3 检测指标

1.3.1 软骨细胞存活率

在保存的第 14、28 d，使用震荡切片机切成 15 μm 厚的软骨切片；滴加 50 mg/L 的 FDA 溶液和 10 mg/L 的 EB 溶液，37℃ 恒温孵育 15 min，PBS 清洗 3 遍；在 450 nm 波长激光激发下荧光显微镜观察软骨切片（100 倍），视野中呈现绿色的为活细胞，红色为死细胞。ImageJ 软件对图像内的绿红细胞计数并计算细胞存活率（细胞存活率（%）=活细胞数目/细胞总数×100%）。

1.3.2 组织学观察

HE 染色：4% 多聚甲醛固定骨软骨 24 h，流水冲洗后置于 10% 的 EDTA 脱钙液中，针轻刺骨组织可轻易穿透，表明脱钙完成；酒精梯度脱水，二甲苯固定，石蜡包埋，切 5 μm 厚的石蜡切片，脱蜡，梯度酒精水化后染色，梯度脱水透明，封片并镜检。

番红 O 染色：石蜡切片脱蜡，梯度酒精水化，染色水洗，复染水洗，梯度酒精脱水透明，封片，40 倍镜下拍照。ImageJ 软件分析番红 O 染色的积分光密度值（integrated option density, IOD）。

甲苯胺蓝染色：石蜡切片脱蜡，梯度酒精水化，染色水洗，梯度酒精透明，封片镜检。检测分析甲苯胺蓝染色的 IOD 值。

1.3.3 生物力学检测

取软骨部分置于压力台上，调节压力台无限靠近软骨但不触及，设置预压缩力为 5.0 N，以 0.1 mm/s 的速度对样本进行压缩检测，计算样本在压缩量 15% 时的杨氏模量。

1.3.4 Western blot 检测 ERK 蛋白

待测样本去除软骨下骨，液氮中研磨，加入蛋白裂解液于冰上进行裂解，收集裂解液，离心后取上清，测定样品蛋白浓度后加入上样缓冲液煮沸备用；样品 10% SDS-PAGE 凝胶中电泳，随后电转至 PVDF 膜上；5% 脱脂牛奶封闭 1h，抗体 ERK（ab201015, Abcam, Cambridge, UK）和内参 GAPDH（ab8245, Abcam, Cambridge, UK）孵育 6 h 后，TBST 清洗 3 遍，

对应二抗孵育 2 h, 显影。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 资料呈正态分布, 组间比较采用独立样本 *t* 检验, 组内比较采用配对 *T* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 软骨细胞存活率

FDA/EB 染色法检测软骨细胞存活染色见图 1a~1d, 绿色代表活的软骨细胞, 红色或橙色代表死的软骨细胞。两组软骨细胞存活率结果见表 1。第 14 d, 超声组活细胞数目较多, 软骨细胞存活率显著高于静态组 ($P < 0.05$); 随着时间推移, 两组软骨细胞存活率均显著降低 ($P < 0.05$); 第 28 d, 超声组软骨细胞存活率高于静态组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 组织学观察

组织学 HE 染色见图 1e~1h。第 14 d, 与静态组相比, 超声组保存的骨软骨细胞排列整齐, 层次清晰, 浅层细胞多呈扁平样, 体积较小, 深层细胞体积较大, 位于陷窝内, 整体基质含量丰富; 随着时间推移, 两组整体基质着色均变浅, 浅层细胞排列紊乱, 蛋白多糖含量下降; 第 28 d, 静态组和超声组保存的骨软骨染色均变浅, 浅层细胞排列紊乱, 但组织结构依旧保持完整状态。

番红 O 染色结果见图 1i~1l 和表 1。第 14 d, 与静态组相比, 超声组保存骨软骨全层着色好且均匀, 蛋白多糖含量高且分布均匀, IOD 值显著升高 ($P < 0.05$); 随着时间推移, 两组基质着色均变浅, 浅层着色变浅程度明显, 蛋白多糖含量下降, IOD 值均显著降低 ($P < 0.05$); 第 28 d, 两组保存的骨软骨颜色略浅染, 蛋白多糖流失较多, 超声组 IOD 值高于静态组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

甲苯胺蓝染色结果见图 1m~1p 和表 1。第 14 d, 与静态组相比, 超声组保存的骨软骨层次分明, 细胞排列整齐, 基质着色较深, 蛋白多糖含量丰富, IOD 值显著升高 ($P < 0.05$); 随着时间推移, 两组基质染色均变浅, 浅层蛋白多糖流失较多, IOD 值均显著降低 ($P < 0.05$); 第 28 d, 两组保存的骨软骨基质均淡染, 颜色变浅, 浅层细胞排列紊乱, 超声组 IOD 值高于静态组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 生物力学检测

杨氏模量检测结果见表 1。第 14 d, 超声组的杨氏模量显著高于静态组 ($P < 0.05$)。随着时间推移, 两组骨软骨的杨氏模量均显著降低 ($P < 0.05$); 第 28 d, 超声组杨氏模量高于静态组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.4 Western blot 检测

Western blot 检测 ERK 蛋白表达情况见表 1。超声刺激 2 h 后, 超声组 ERK 蛋白表达水平显著高于静态组 ($P < 0.05$)。

表 1 两种处理骨软骨标本检测结果 ($\bar{x} \pm s$) 与比较

指标	时间点	超声组 (n=30)	静态组 (n=30)	P 值
软骨细胞存活率 (%)	14 d	75.5±1.8	65.6±1.5	<0.001
	28 d	54.7±3.0	52.0±3.0	0.156
	P 值	<0.001	<0.001	
番红 O 染色 (IOD 值)	14 d	224.7±4.1	166.5±3.7	<0.001
	28 d	131.4±3.6	125.9±4.0	0.053
	P 值	<0.001	<0.001	
甲苯胺蓝染色 (IOD 值)	14 d	223.7±6.0	166.7±5.0	<0.001
	28 d	126.4±3.1	124.7±0.8	0.272
	P 值	<0.001	<0.001	
杨氏模量 (MPa)	14 d	8.7±0.3	7.0±0.0	<0.001
	28 d	6.4±0.2	6.2±0.1	0.054
	P 值	<0.001	<0.001	
ERK 蛋白水平 (相对值)		0.9±0.1	0.5±0.2	0.019

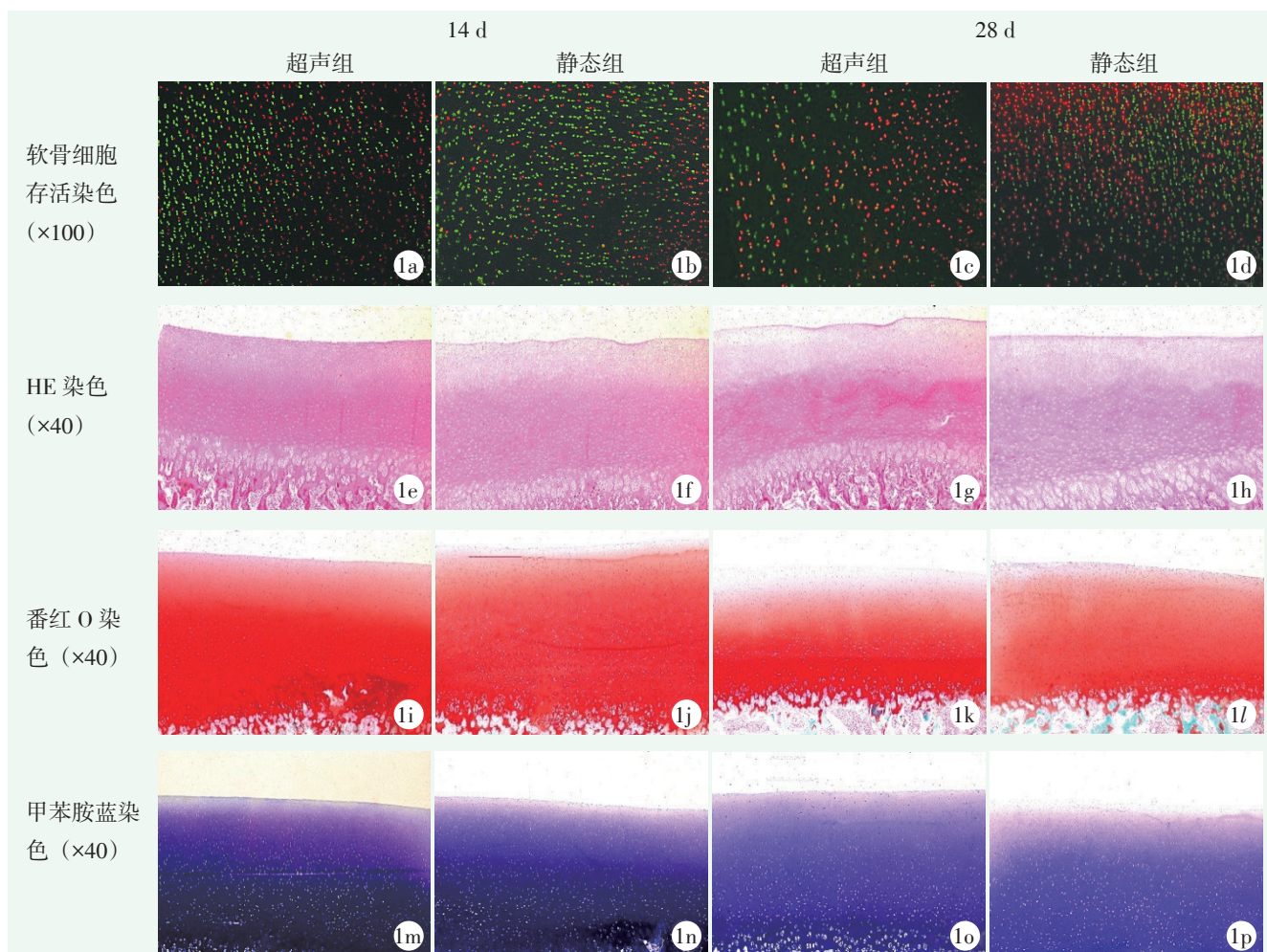


图 1 连续低强度超声对骨软骨体外保存的影响形态观察。1a~1d: 软骨细胞存活染色示超声处理和未处理骨软骨 14、28 d 时软骨细胞存活情况；1e~1h: HE 染色示超声处理和未处理骨软骨 14、28 d 时组织形态结构变化情况；1i~1l: 番红 O 染色示超声处理和未处理骨软骨 14、28 d 时组织结构和基质中蛋白多糖的含量和分布；1m~1p: 甲苯胺蓝染色示超声处理和未处理骨软骨 14、28 d 时组织形态结构和基质中蛋白多糖的含量和分布。

3 讨论

生理状态下，生物力学刺激对软骨细胞的发育、稳态和功能至关重要，软骨细胞感知机械应力并转化为细胞内信号分子的激活，最终影响软骨细胞的代谢活动。既往研究多集中于力学刺激对软骨细胞代谢的影响^[12, 13]，对体外保存 OCT 施加力学刺激以延长保存时间相关研究在国内外鲜有报道。前期研究发现滚动-滑动机械刺激抑制猪骨软骨凋亡相关蛋白和基因的表达，延缓软骨细胞活性降低，抑制 ECM 成分分解和力学性能下降，延长猪骨软骨的体外保存时间^[14, 15]。这提示适当的力学刺激可以抑制 OCT 的活性降低，延长其体外保存时间。LIUS 作为力学刺激的一种，可以促进软骨细胞增殖或 ECM 合成缓解骨性关节炎的进展^[16, 17]，但其对 OCT 的体外保存效果

仍不清楚。本研究中，首次将 cLIUS 应用于体外保存猪骨软骨，在保存 14 d 内保持软骨细胞存活率高于 70%，并维持猪骨软骨良好的组织学和生物力学特性。

软骨细胞的活性对于维持 OCT 的生物化学和生物力学特性至关重要。维持软骨细胞存活率超过 70% 是保证 OCAs 手术成功的必要条件^[18]。本研究结果显示，cLIUS 处理后的猪骨软骨 14 d 细胞存活率显著高于静态组，并达到了 OCAs 细胞存活率要求。但在第 28 d，两组软骨细胞存活率均 < 70%，这提示 cLIUS 可以有效延缓软骨细胞活性降低，但在骨软骨长期保存效果方面还需要进一步探究。组织学染色和杨氏模量结果显示，第 14 d，超声组蛋白多糖含量和生物力学性能均优于静态组，但在第 28 d，两组指标均显著下降，这提示在 14 d 内 cLIUS 可以有效抑制 ECM 的降解，维持猪骨软骨的生物力学性能。

ERK 蛋白几乎存在于包括骨和软骨在内的所有组织中,是调节细胞外信号从细胞表面传导至细胞核的关键^[19]。近期研究发现,通过抑制 ERK 信号通路,增加了一氧化氮诱导的兔软骨细胞凋亡^[20],这提示 ERK 信号通路的潜在抗凋亡作用,增强 ERK 信号通路的表达或许能抑制软骨细胞凋亡,为骨软骨相关疾病带来积极结果。此外,ERK1/2 被认为是生物力学环境中的机械转导因子,作为整合素-ERK 信号通路的下游效应分子,在成骨细胞中,机械应力刺激通过整合素 $\beta 1$ 激活 ERK 信号,进而促进细胞增殖,调节成骨细胞的生长和重塑^[21]。本研究中,cLIUS 的应用增加了 ERK 蛋白的表达水平,这与既往文献报道一致^[22, 23]。然而,在包括骨性关节炎在内的一些病理模型中,ERK 蛋白的上调似乎引导了不利的结果^[24, 25]。但总的来说,本研究表明,cLIUS 刺激可能部分通过上调 ERK 蛋白表达,延缓细胞存活率下降,提高体外猪骨软骨保存时间。

本研究仍有一些需要解决的问题:(1) cLIUS 延长骨软骨保存时间的具体分子机制还需要进行深入分析及探索;(2) cLIUS 的力学和生物学效应与其声学参数(强度、频率、占空比等)密切相关,考虑到不同组织和细胞的特性,探究最佳的声学参数对骨软骨的保存效果至关重要。

本研究表明 cLIUS 的应用或许是提高体外保存 OCT 的有效方法,cLIUS 可以在 14 d 内维持软骨细胞的活性>70%,延缓 ECM 成分降解,提高骨软骨的体外保存效果,其机制可能与上调 ERK 蛋白表达有关,具体调控机理仍需进一步研究探索。

参考文献

[1] 贾海栋,李毅.兔脂肪间充质干细胞膜片促进关节软骨损伤修复[J].中国矫形外科杂志,2022,30(16):1497-1502.
[2] 许树柴,李敏龙,刘军,等.异体骨软骨镶嵌治疗膝关节创伤性骨软骨大面积缺损(1例报告)[J].中国矫形外科杂志,2013,21(22):2330-2332.
[3] Cook JL, Stannard JP, Stoker AM, et al. Importance of donor chondrocyte viability for osteochondral allografts [J]. Am J Sports Med, 2016, 44 (5): 1260-1268.
[4] Kiviranta I, Tammi M, Jurvelin J, et al. Moderate running exercise augments glycosaminoglycans and thickness of articular cartilage in the knee joint of young beagle dogs [J]. J Orthop Res, 1988, 6 (2): 188-195.
[5] Sekino J, Nagao M, Kato S, et al. Low-intensity pulsed ultrasound induces cartilage matrix synthesis and reduced MMP13 expression in chondrocytes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 506 (1): 290-297.

[6] Vahedi P, Hosainzadegan H, Brazvan B, et al. Treatment of cartilage defects by Low-intensity pulsed ultrasound in a sheep model [J]. Cell Tissue Bank, 2021, 22 (3): 369-378.
[7] Jortikka MO, Inkinen RI, Tammi MI, et al. Immobilisation causes longlasting matrix changes both in the immobilised and contralateral joint cartilage [J]. Ann Rheum Dis, 1997, 56 (4): 255-261.
[8] Sahu N, Viljoen HJ, Subramanian A. Continuous low-intensity ultrasound attenuates IL-6 and TNF α -induced catabolic effects and repairs chondral fissures in bovine osteochondral explants [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2019, 20 (1): 193.
[9] Li X, Li J, Cheng K, et al. Effect of low-intensity pulsed ultrasound on MMP-13 and MAPKs signaling pathway in rabbit knee osteoarthritis [J]. Cell Biochem Biophys, 2011, 61 (2): 427-434.
[10] Kamatsuki Y, Aoyama E, Furumatsu T, et al. Possible reparative effect of low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) on injured meniscus [J]. J Cell Commun Signal, 2019, 13 (2): 193-207.
[11] Kobayashi T, Kozlova A. Lin28a overexpression reveals the role of Erk signaling in articular cartilage development [J]. Development, 2018, 145 (15): dev162594.
[12] 张猛,张杰,张文,等.不同力学刺激对骨性关节炎软骨 I 型胶原蛋白产生的影响[J].中国矫形外科杂志,2015,23(13):1206-1211.
[13] Liang W, Li Z, Wang Z, et al. Periodic mechanical stress induces chondrocyte proliferation and matrix synthesis via CaMKII-mediated Pyk2 signaling [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 42 (1): 383-396.
[14] Qi J, Jin C, Qu P, et al. Rolling-sliding load decreases the loss of chondrocyte viability and the mechanical properties of cartilage explants preserved in vitro [J]. Cell Tissue Bank, 2019, 20 (4): 545-555.
[15] Qu P, Qi J, Han Y, et al. Effects of rolling-sliding mechanical stimulation on cartilage preserved in vitro [J]. Cell Mol Bioeng, 2019, 12 (4): 301-310.
[16] Sang F, Xu J, Chen Z, et al. Low-intensity pulsed ultrasound alleviates osteoarthritis condition through focal adhesion kinase-mediated chondrocyte proliferation and differentiation [J]. Cartilage, 2021, 13 (2_suppl): 196S-203S.
[17] Xia P, Ren S, Lin Q, et al. Low-intensity pulsed ultrasound affects chondrocyte extracellular matrix production via an integrin-mediated p38 MAPK signaling pathway [J]. Ultrasound Med Biol, 2015, 41 (6): 1690-1700.
[18] Cook JL, Stannard JP, Stoker AM, et al. Importance of donor chondrocyte viability for osteochondral allografts [J]. Am J Sports Med, 2016, 44 (5): 1260-1268.
[19] Lu N, Malesud CJ. Extracellular signal-regulated kinase: a regulator of cell growth, inflammation, chondrocyte and bone cell receptor-mediated gene expression [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20 (15): 3792.
[20] Chen Q, Kao X, Gao Y, et al. Increase in NO causes osteoarthritis and chondrocyte apoptosis and chondrocyte ERK plays a protective role in the process [J]. Mol Biol Rep, 2021, 48 (11): 7303-

- 7312.
- [21] Yan YX, Gong YW, Guo Y, et al. Mechanical strain regulates osteoblast proliferation through integrin-mediated ERK activation [J]. PLoS One, 2012, 7 (4): e35709.
- [22] Choi BH, Choi MH, Kwak MG, et al. Mechanotransduction pathways of low-intensity ultrasound in C-28/I2 human chondrocyte cell line [J]. Proc Inst Mech Eng H, 2007, 221 (5): 527-535.
- [23] Whitney NP, Lamb AC, Louw TM, et al. Integrin-mediated mechanotransduction pathway of low-intensity continuous ultrasound in human chondrocytes [J]. Ultrasound Med Biol, 2012, 38 (10): 1734-1743.
- [24] Zhu M, Xu Q, Yang X, et al. Vindoline attenuates osteoarthritis progression through suppressing the NF- κ B and ERK pathways in both chondrocytes and subchondral osteoclasts [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 764598.
- [25] Zhang HJ, Liao HY, Bai DY, et al. MAPK/ERK signaling pathway: a potential target for the treatment of intervertebral disc degeneration [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 143: 112170.
- (收稿:2022-10-24 修回:2023-03-23)
(同行评议专家:李丹,吴玉杰,赵庆华)
(本文编辑:宁桦)

读者·作者·编者

本刊关于投稿时附加相关文件的通知

为了保证学术期刊的严肃性和科学性,维护学术诚信,杜绝学术不端,落实合理医疗及相关医疗规章制度;同时,也为了提高本刊来稿审评效率,缩短审稿周期,使优质稿件尽快发表。自即日起,凡向本刊投稿者,除上传稿件、图片文件外,所有来稿必须在本刊投稿系统中上传以下 2 个基本附加文件:

(1) 单位介绍信:证明稿件内容是真实的,为本单位人员撰写,作者署名无争议,无一稿两投,单位介绍信需加盖单位公章。

(2) 学术诚信承诺书:由第一作者或通讯作者撰写,承诺稿件内容为自己的工作,并由本人撰写,不存在由第三方代写、代投行为;无剽窃、抄袭他人学术成果;无伪造、篡改实验数据;无编造数据资料等其他学术不端行为,无不当署名等情况;承诺研究数据及结果真实、可靠,为作者原创。

此外,以下情况还需补充相关文件。

(1) 导师推荐信:研究生工作期间撰写的稿件必需附导师推荐信,并由导师任通讯作者。简要介绍学生和稿件撰写情况,以及推荐理由。推荐人亲笔签名,并注明单位、职称、联系方式。

(2) 上级医师推荐信:医师、主治医师撰写涉及上一级资质的手术或其他诊疗内容,必须附上上级医生推荐信,并由上级医生任通讯作者。推荐信说明资料的真实性和推荐理由。推荐人亲笔签名,并注明单位、职称、联系方式。

(3) 基金证明:凡文稿内容有基金资助的,包括国际、国家、省、市、县,以及系统、企业、本单位的各类科研基金,除在文稿首页下脚注明基金项目名称和编号外,请务必上传能够证明基金的批准证书或文件复印件。

(4) 同行专家推荐信:如文稿附加 2 名同行专家推荐信,可显著加快稿件处理进程。专家需具备副高以上职称,推荐信对文稿内容的科学性、创新性、实用性、可读性做出评价。推荐人亲笔签名,并注明单位、职称、联系方式。

以上文件的参考样式请前往本刊远程投稿系统 (<http://jxwk.ijournal.cn>) 首页下载专区下载。需制成 JPG 或 PDF 文件,上传至本刊投稿系统,或将原件快递至本刊编辑部。必备文件齐全后,本刊方对稿件进行处理。

中国矫形外科杂志编辑部
2021 年 5 月 11 日