

●综述与进展●

静磁场对骨改建的生物学研究进展

颜旂萌¹ 周永龙¹ 刘艺帆² 欧阳志强^{3#}

(1 南昌大学口腔医学院 2020 级硕士研究生 江西南昌 330031; 2 南昌大学口腔医学院 2021 级硕士研究生 江西南昌 330031; 3 南昌大学附属口腔医院 江西南昌 330006)

关键词:骨组织;骨改建;静磁场

中图分类号:R68

文献标识码:A

doi:10.13638/j.issn.1671-4040.2021.18.075

各种退行性病变或外伤导致的骨缺损严重影响患者的生活质量,骨组织的替代和再生成为临床研究的重要内容。以往采用的解决方法通常是植入骨粉或骨移植,但骨粉塑性困难且术后会发生部分或完全吸收,自体骨移植会损伤供骨部位,并发症程度可能因部位和技术的差异而存在不同,包括出血、神经损伤、疼痛、感染和功能丧失等^[1]。使用来自骨库的人体或动物骨移植可以防止供体部位出现并发症,但存在病毒或细菌感染的潜在风险,以及自身对植入物的免疫排斥反应^[2],并不能达到一个稳定而持久的预后效果。近年来,磁性纳米颗粒(Magnetic nano Particles, MNPs)在生物和医疗领域的应用越来越广泛,多项研究证实了其良好的生物相容性^[3],且具有一些独特的应用如磁性药物输送^[4]。Bock 等^[5]以功能化 MNPs 作为载体,利用磁场将生物制剂输送到磁性支架内部,提高生物制剂释放部位的准确性以及延长生物制剂作用的时间。本研究从静磁场(SMF)对骨缺损修复的作用入手,介绍 SMF 对骨改建生物学研究进展,并讨论 SMF 在骨组织工程中的应用前景。

1 SMF 对骨缺损修复的作用

磁场包括 SMF、脉冲电磁场(PEMF)、旋转磁场(RMF)和交变电磁场。它们有助于种植体与宿主组织的结合,增加新骨的矿物质密度,促进缺损愈合。但电磁场既能产生磁场又能产生电流,对于哪一种因素对骨形成的作用更大,还不能得出明确的结论,且电磁场可能对组织造成热和电危害。SMF 既没有诱导电流也没有引起矢量变化,因而 SMF 可以直接诱导成骨细胞定向分化,可应用于长期的骨骼愈合,如当使用永磁体进行刺激时,不需要额外的动力装置提供外部能量。

研究表明 SMF 对种植体植入、骨折愈合、骨缺损等均有积极作用,Bambini 等^[6]发现在口腔种植体植入的部位周围施加 SMF 刺激,可以促进种植体周围骨组织形成。Aydin 等通过对 20 只植入磁性/非磁性髓内装置的新西兰大白兔进行组织学、放射学和骨密度检查,结果表明带 SMF 的髓内植入物能够在放射学上改善前两周的骨愈合^[7],Meng 等将磁性材料引入纳米纤维支架中,从而验证了超顺磁性纳米纤维支架

与外加 SMF 对体内骨缺损的协同成骨作用^[8]。

2 SMF 对骨改建的生物学效应

关于 SMF 对骨改建的生物学效应,本文将从组织层面、细胞层面以及分子层面综述近些年的研究情况。

2.1 组织层面 骨骼具有多种生理功能,是仅次于血液的第二大移植组织^[9]。但临床中对于大型骨缺损的治疗仍不理想,用组织工程化结构修复大型骨缺损的一个主要挑战是血管化不足,血管化不足会导致氧气和营养物质缺乏,从而影响种子细胞的生存。成功的骨改建,不仅要求重建具有良好生物活性的血管组织,还需要有能配合其运动,协调一致的骨骼肌结缔组织,而 SMF 为这些问题的解决提供了新的思路。

2.1.1 血管组织 对于高度血管化的骨组织,重建大型骨骼缺损的组织工程方法往往因为血管化不足而失败^[10-11]。为了研究磁刺激是否可以同时激发成骨细胞活性和血管生成能力,Filippi 等^[12]通过将 MNPs 掺入到含有间质血管组织的聚乙二醇(PEG)的水凝胶中,产生了新型的磁化纳米复合水凝胶,之后研究 SMF 对成骨细胞和血管生成特性的刺激作用,以单独应用 MNPs 或 SMF 作为对照,结果显示在小鼠皮下植入复合水凝胶,磁驱动作用下形成了更细长的毛细血管样结构,并且矿化基质沉积均较对照组增强。Xu 等^[13]使用缺血性大鼠股骨模型研究了 SMF 对骨形成的影响,发现磁化组 1 的骨量明显高于未磁化组,SMF 对缺血大鼠股骨骨形成的增强似乎是源自于股骨血液循环的改善。

2.1.2 骨骼肌结缔组织 在骨改建的过程中,为了重建患者的生理功能,高度血管化的骨组织至关重要,骨骼肌运动的协调也不可或缺。研究证明磁力不仅可以激发血管生成能力,还可以加强骨骼肌的协调收缩。近年来,骨骼肌作为生物致动器备受关注,天然骨骼肌是由平行排列的横纹肌管组成,而肌管是主要由胶原蛋白构成的一种结缔组织。Yamamoto 等^[14]利用磁性阳离子脂质体对 C2C12 成肌细胞进行磁性标记,在外加磁力的作用下构建人工骨骼肌组织,并对该组织的生化 and 收缩特性进行了评估,组织学检查可见细长的多核肌管。结果证明

通信作者:欧阳志强,E-mail:906240174@qq.com

了磁力对骨骼肌组织生理功能的积极作用。

2.2 细胞层面 骨是一个不断更新的组织,主要由骨髓间充质干细胞、骨细胞、成骨细胞和破骨细胞组成。成骨细胞促进骨形成,破骨细胞诱发骨吸收,两者间保持动态平衡,也称为骨重塑。骨重塑对正常的骨代谢、骨完整性和适当的骨强度起着举足轻重的作用^[5]。在细胞水平上,SMF 可以调节细胞的各项功能,包括增殖、分化、表面形态改变、基因表达等。

2.2.1 影响细胞增殖分化 对不同类型的细胞,如骨髓间充质干细胞、大鼠颅骨细胞、人骨肉瘤细胞系 MG63、小鼠颅骨成骨细胞 MC3T3-E1 等,应用适量 SMF 可增强细胞分化^[6]。根据 Owen 等^[7]的研究,成骨细胞分化可分为三个阶段:增殖期、基质成熟期和矿化期。与基质发育成熟相关的胶原合成、碱性磷酸酶(ALP)活性增强,提示细胞从增殖期向基质成熟期过渡。骨钙素是成骨细胞矿化期的标志,在大鼠颅骨细胞培养中,高分化的成骨细胞在矿化期表达骨钙素。Yamamoto 等^[8]通过用 SMF 处理大鼠颅骨细胞,研究 SMF 对成骨细胞增殖分化的作用,发现 SMF 暴露组培养液中,骨钙素的含量以及 ALP 活性均增加,并且 SMF 存在时,骨结节的总面积、个数和平均大小均处于较高水平,表明 SMF 通过促进成骨细胞的分化和 / 或激活来刺激骨形成。然而,分化效应的机制尚未被很好地描述。Huang 等^[9]推测 SMF 通过调节细胞释放的早期局部因子,从而刺激成骨细胞的分化。通过比较 SMF 暴露组和未暴露组中细胞转化生长因子- β_1 、I 型胶原、骨桥蛋白和碱性磷酸酶水平,表明 SMF 暴露组的 MG63 细胞产生的局部调节因子大于对照组细胞。这些发现提供了 SMF 通过上调早期局部因子影响成骨细胞成熟的证据。

2.2.2 影响细胞形态 SMF 可以直接影响细胞膜、细胞骨架和蛋白质分布(如肌动蛋白丝),从而促进细胞形态的改变。Abadi 等^[20]归纳了有关中等强度 SMF 生物学效应的形态学研究数据,他们发现细胞凋亡率以及细胞表面形状都受到 SMF 刺激的影响。细胞暴露于 SMF 促进了 F-肌动蛋白丝的重排,而 F-肌动蛋白丝又可能引起细胞表面修饰,从而导致细胞形状和质膜结构的改变^[21]。

2.2.3 影响细胞基因表达 基因表达在细胞代谢、生物合成和细胞应激反应中起着重要作用^[22]。SMF 一旦作用于 DNA 的完整性以及 DNA 转录和翻译,就被引用为这些过程的改变因子。Wang^[23]等发现高磁力环境能同时影响成骨细胞基因和细胞骨架相关基因的表达,之后该研究团队使用特殊设计的具有大梯度高磁场(LG-HMF)的超导磁体,研究了 LG-HMF 对骨细胞样细胞系 MLO-Y4 基因表达谱的影响,结果表明 LG-HMF 会影响骨细胞中能量代谢相关基因的表达。廖钟财^[24]研究团队分析骨样细

胞系 MLO-Y4 在不同 SMF 强度下的生物学效应,发现 MLO-Y4 细胞在 500 nT 亚磁场作用下促进了 RANKL 基因而抑制 Cx43 基因表达,在 0.2 T 中强磁场下无明显生物学行为变化,而在 16 T 强磁场下抑制了 RANKL 基因而促进 iNOS 基因和 Cx43 基因表达,据推测 MLO-Y4 细胞在磁场中的基因表达可能与连接蛋白半通道有关^[25]。

2.3 分子层面 SMF 对骨改建的生物学效应,无论对于组织层面还是细胞层面来说,必然同时伴有分子层面的改变。SMF 对骨改建的调控可能是 SMF 影响了细胞膜、细胞内钙离子以及矿物质元素等,接下来将从分子层面综述目前的研究情况。

2.3.1 细胞膜 细胞膜是 SMF 作用的主要靶点之一,主要是因为细胞膜的磷脂双分子层具有抗磁性各向异性^[26]。当磁通量密度超过一定阈值时,磷脂双分子层在 SMF 中将发生重排,这可能导致细胞膜变形,改变离子通道、离子泵等,从而产生生物学效应,影响细胞膜的生物物理特性(如膜流动性)。并且这种作用主要是针对细胞膜亲水区域,而非疏水区域,膜流动性常被用来评估 SMF 处理后细胞膜的生物物理特性变化。研究表明 SMF 可改变细胞膜两侧的流体静压,影响膜流动性从而影响成骨细胞的分化。此外有研究^[29]显示,磁场会作用于细胞膜上的受体,激活 cAMP 系统,活化酶系统从而促进细胞的增殖分化。

2.3.2 钙离子 目前很多研究认为,SMF 通过钙离子信号通道产生生物学效应^[27]。钙离子浓度的变化可以影响细胞骨架之间的相互作用或影响钙离子结合蛋白。王胜国等^[28]认为,一定强度的 SMF 可以促进成骨细胞增殖,增加成骨细胞的 ALP 活性。其机制可能是 SMF 作用于细胞膜,使表面钙泵的活性变化,继而导致成骨细胞活性的改变。此外,王胜国及其他研究人员动态检测加载 SMF 后成骨细胞内钙离子浓度变化,结果表明一定强度的 SMF 能够降低成骨细胞内的钙离子浓度。其他研究也显示,0.4 T 的 SMF 可通过影响骨髓干细胞的细胞膜和激活细胞内钙离子,从而促进细胞增殖^[29]。因此,磁场促成骨细胞增殖可能与钙离子浓度变化有关,磁场通过改变钙离子浓度,调控核内因子,从而调节成骨细胞的增殖分化。

2.3.3 矿物质元素 Zhang 等^[30]使用 500 nT 的低磁场(HyMF),0.2 T 的中度 SMF(MMF)和 16 T 的高 SMF(HiMF)研究 SMF 对 MC3T3-E1 细胞矿化过程中矿物元素含量的影响。结果表明,分化中的成骨细胞比未分化的成骨细胞积累了更多的矿物质元素,HyMF 降低了成骨细胞的分化能力,但不影响矿物质元素的含量;MMF 虽降低了成骨细胞分化能力,但仍伴有铁含量升高;HiMF 增强了成骨细胞的分化能力,并增加了除铜外的所有矿物质元素含量。这

提示 SMF 作用下成骨细胞分化电位的改变可能与不同矿物质元素的参与有关。Yang 等^[31]评估了 SMF 对骨细胞(尤其是成骨细胞)功能的影响并进一步探索了机制,发现 SMF 在成骨细胞的增殖和分化过程中改变了铁元素含量,表明铁元素可能参与了 SMF 作用于成骨细胞分化的过程。

3 小结与展望

在有关骨组织的外界物理刺激中,SMF 因为其疗效稳定且能克服电磁场电热效应对人体造成的伤害,而得到了极大的关注。虽然 SMF 对骨组织的影响机制错综复杂,但是在临床上利用 SMF 促进成骨细胞增殖分化,抑制破骨细胞活性,增加骨量,从而开展对于骨移植、骨质疏松、骨折愈合、骨关节疾病等治疗的报道已并不少见。许多研究表明 SMF 无论在组织、细胞乃至分子层面都对骨组织改建有生物学效应,SMF 能够同时激发成骨细胞和血管生成能力,促进骨骼肌纤维收缩特性。作为新兴的生物分子材料,磁性材料应用于骨组织工程,使得在磁场作用下,细胞支架可以像磁铁一样被激活并发挥作用,这在克服现有骨替代疗法的局限性方面具有巨大的潜力。因此,了解 SMF 对于骨改建的生物学效应,可以使临床医师更好地利用磁场来满足医学需求。随着磁性材料性能的提高以及对 SMF 作用机制研究的深入,SMF 在骨组织工程中的应用前景将更加广泛。

参考文献

[1]Vivas D,Grau-Vorster M,Oliver-Vila L et al.Evaluation of a cell-based osteogenic formulation compliant with good manufacturing practice for use in tissue engineering[J].Mol Biol Rep,2020,47(5):5145-5154.

[2]Guinto G,Nettel B,Hernandez E,et al.Osseous remodeling technique of the sella turcica: a new surgical option for primary empty sella syndrome[J].World Neurosurg,2019,126:e953-e958.

[3]Nabavinia M,Beltran-Huarac J.Recent progress in iron oxide nanoparticles as therapeutic magnetic agents for cancer treatment and tissue engineering [J].ACS Applied Bio Materials,2020,3 (12): 8172-8187.

[4]Kaushik A,Rodriguez J,Rothen D,et al.MRI-Guided,Noninvasive delivery of magneto-electric drug nanocarriers to the brain in a nonhuman primate [J].ACS Applied Bio Materials,2019,2 (11): 4826-4836.

[5]Bock N,Riminucci A,Dionigi C,et al.A novel route in bone tissue engineering: magnetic biomimetic scaffolds[J].Acta Biomater,2010,6 (3):786-796.

[6]Bambini F,Santarelli A,Putignano A,et al.Use of supercharged cover screw as static magnetic field generator for bone healing,2nd part: in vivo enhancement of bone regeneration in rabbits [J].J Biol Regul Homeost Agents,2017,31(2):481-485.

[7]Aydin N,Bezer M.The effect of an intramedullary implant with a static magnetic field on the healing of the osteotomised rabbit femur [J].Int Orthop,2011,35(1):135-141.

[8]Meng J,Xiao B,Zhang Y,et al.Super-paramagnetic responsive nanofibrous scaffolds under static magnetic field enhance osteogenesis for bone repair in vivo[J].Sci Rep,2013(3):2655.

[9]Kim H,Kar AK,Kaja A,et al.More weighted cancellous bone can be harvested from the proximal tibia with less donor site pain than anterior iliac crest corticocancellous bone harvesting: retrospective review[J].J Orthop Surg Res,2021,16(1):220.

[10]Genova T,Munaron L,Carossa S,et al.Overcoming physical constraints in bone engineering:'the importance of being vascularized'[J].J Biomater Appl,2016,30(7):940-951.

[11]Liu X,Chen W,Zhang C,et al.Co-seeding human endothelial cells with human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells on calcium phosphate scaffold enhances osteogenesis and vascularization in rats [J].Tissue Eng Part A,2017,23 (11-12): 546-555.

[12]Filippi M,Dasen B,Guerrero J,et al.Magnetic nanocomposite hydrogels and static magnetic field stimulate the osteoblastic and vasculogenic profile of adipose-derived cells [J].Biomaterials, 2019,223:119468.

[13]Xu S,Tomita N,Ohata R,et al.Static magnetic field effects on bone formation of rats with an ischemic bone model [J].Biomed Mater Eng,2001,11(3):257-263.

[14]Yamamoto Y,Ito A,Fujita H,et al.Functional evaluation of artificial skeletal muscle tissue constructs fabricated by a magnetic force-based tissue engineering technique [J].Tissue Eng Part A, 2011,17(1-2):107-114.

[15]Sims NA,Martin TJ.Osteoclasts provide coupling signals to osteoblast lineage cells through multiple mechanisms [J].Annu Rev Physiol,2020,82:507-529.

[16]Tasic T,Lozic M,Glumac S,et al.Static magnetic field on behavior, hematological parameters and organ damage in spontaneously hypertensive rats[J].Ecotoxicol Environ Saf,2021,207:111085.

[17]Owen T,Aronow M,Shalhoub V,et al.Progressive development of the rat osteoblast phenotype in vitro: reciprocal relationships in expression of genes associated with osteoblast proliferation and differentiation during formation of the bone extracellular matrix [J]. 1990,143(3):420-430.

[18]Yamamoto Y,Ohsaki Y,Goto T,et al.Effects of static magnetic fields on bone formation in rat osteoblast cultures [J].J Dent Res,2003,82 (12):962-966.

[19]Huang HM,Lee SY,Yao WC,et al.Static magnetic fields up-regulate osteoblast maturity by affecting local differentiation factors [J].Clin Orthop Relat Res,2006,447:201-208.

[20]Abadi B,Ahmadi-Zeidabadi M,Dini L,et al.Stem cell-based therapy treating glioblastoma multiforme [J].Hematol Oncol Stem Cell Ther, 2021,14(1):1-15.

[21]Tian X,Wang D,Zha M,et al.Magnetic field direction differentially impacts the growth of different cell types [J].Electromagn Biol Med, 2018,37(2):114-125.

[22]Albuquerque WW,Costa RM,Fernandes Tde S,et al.Evidences of the static magnetic field influence on cellular systems [J].Prog Biophys Mol Biol,2016,121(1):16-28.

[23]Wang Y,Chen ZH,Qian AR,et al.GeneChip expression profiling reveals the alterations of energy metabolism related genes in osteocytes under large gradient high magnetic fields [J].PLoS One, 2015,10(1):e0116359.

[24]廖钟财,杨建成,吕欢欢,等.骨细胞 MLO-Y4 在不同强度静磁场下的生物学效应[J].航天医学与医学工程,2019,32(4):283-290.

[25]Wang S,Huyan T,Zhou L,et al.Effect of high static magnetic field (2 T-12 T) exposure on the mineral element content in mice [J].Biol Trace Elem Res,2021,199(9):3416-3422.

[26]Kim EC,Park J,Noh G,et al.Effects of moderate intensity static magnetic fields on osteoclastic differentiation in mouse bone marrow cells[J].Bioelectromagnetics,2018,39(5):394-404.

[27]Jiao D, Ji K,Liu H,et al.Transcriptome analysis reveals genes involved in thermogenesis in two cold-exposed sheep breeds [J]. Genes (Basel),2021,12(3):375.

[28]王胜国,周力,陈扬熙,等.不同强度静磁场对成骨细胞细胞内钙离子浓度的影响[J].第三军医大学学报,2010,32(23):2515-2518.

[29]Lew WZ,Huang YC,Huang KY,et al.Static magnetic fields enhance dental pulp stem cell proliferation by activating the p38 mitogen-activated protein kinase pathway as its putative mechanism [J].J Tissue Eng Regen Med,2018,12(1):19-29.

[30]Zhang J,Ding C,Shang PJBTER.Alterations of mineral elements in osteoblast during differentiation under hypo, moderate and high static magnetic fields[J].2014,162:153-157.

[31]Yang J,Zhang J,Ding C,et al.Regulation of osteoblast differentiation and iron content in MC3T3-E1 cells by static magnetic field with different intensities[J].Biol Trace Elem Res,2018,184(1):214-225.

(收稿日期: 2021-05-31)