

骨陷窝-微管代谢和生理功能的研究应用与进展

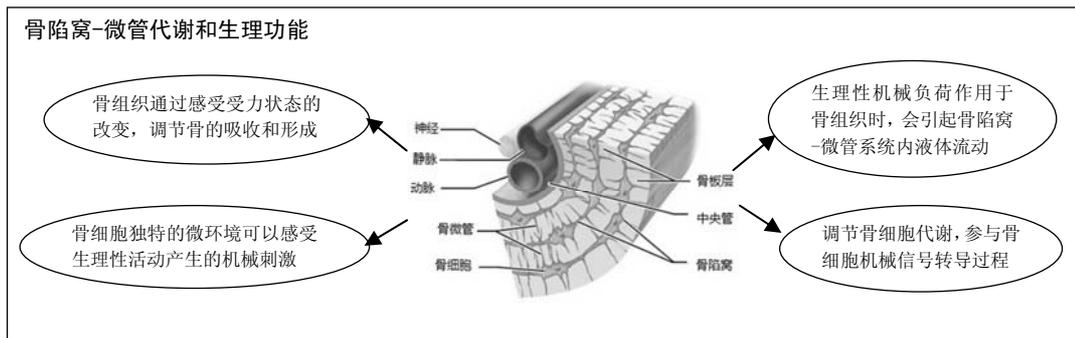
时利军¹, 高福强², 孙伟²(北京大学中日友好医院, ¹骨科, ²骨关节外科, 骨坏死与关节保留重建中心, 北京市 100029)

引用本文: 时利军, 高福强, 孙伟. 骨陷窝-微管代谢和生理功能的研究应用与进展[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(42): 6363-6370.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.42.020

ORCID: 0000-0001-6559-1604(时利军)

文章快速阅读:



时利军, 男, 1990年生, 河南省开封市人, 汉族, 北京大学医学部中日友好临床医学院在读硕士, 主要从事股骨头坏死、关节置换方面的研究。

并列第一作者: 高福强, 男, 1983年生, 山东省潍坊市人, 北京大学医学部毕业, 博士, 主要从事股骨头坏死的基础与临床研究。

通讯作者: 孙伟, 主任医师, 副教授, 硕士生导师, 博士生导师, 北京大学中日友好医院骨关节外科, 骨坏死与关节保留重建中心, 北京市 100029

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2016)42-06363-08

稿件接受: 2016-07-23

文题释义:

骨陷窝-微管系统: 骨细胞处于矿化的基质中, 胞体及其树突状突起与矿化的基质之间有一定的空隙, 分别称为骨陷窝和骨小管, 骨细胞之间通过这个网络相连。

压力诱导性液体流动: 由于骨陷窝-小管内空间有限, 其内液体在受到压力时会流动, 对维持骨细胞代谢和发挥生理功能有重要作用。

摘要

背景: 个体在进行生理活动时, 可以引起骨细胞周围间隙内液体的流动, 这种液体流动对骨细胞代谢和发挥机械信号转导功能十分重要。

目的: 总结近年来关于骨结构和生理功能的研究进展, 进一步阐明生理性负荷影响骨组织的机制。

方法: 应用计算机检索 PubMed 数据库检索 2009 年 1 月至 2015 年 12 月关于骨微结构, 骨代谢和骨细胞机械信号转导相关的文章, 检索词为“osteocyte; mechanical load, permeability, lacunar-canalicular system, interstitial fluid flow, mechanotransduction, signaling pathways”, 通过对资料初审, 排除较旧或者研究方法错误的文献报道, 共搜集到符合纳入标准的文献 40 篇。

结果与结论: 骨组织可以迅速适应机械环境的变化, 保证在骨功能性活动区有足够的骨量, 即通过感受受力状态的变化, 调节骨的吸收和形成, 这和骨细胞的生理特点密切相关。骨细胞位于矿化的骨基质中, 周围独特的微环境使其可以感受个体生理性活动产生的机械刺激, 并将这种机械信号转化为化学信号进而调节骨的吸收或形成。当生理性机械负荷作用于骨组织时, 会引起骨陷窝-微管系统内液体流动, 即压力诱导性液体流动, 这种液体运动通过 2 种机制影响骨细胞: 调节骨细胞代谢, 参与骨细胞机械信号转导过程。总之, 生理性的机械负荷对于维持骨健康和调节骨适应有重要意义。

关键词:

组织构建; 骨细胞; 机械性负荷; 渗透性; 陷窝-小管系统; 组织间液; 机械信号转导; 信号途径; 国家自然科学基金

主题词:

骨和骨组织; 微管; 信号传导; 组织工程

基金资助:

国家自然科学基金面上项目(81372013); 国家自然科学基金(81672236); 中日友好医院面上项目(2013-MS-27); 中日友好医院青年科技英才计划(2014-QNYC-A-06)

Shi Li-jun, Studying for master's degree, Department of Orthopedics, China-Japan Friendship Hospital, Peking University, Beijing 100029, China

Gao Fu-qiang, M.D., Department of Orthopedics, China-Japan Friendship Hospital, Peking University, Beijing 100029, China

Shi Li-Jun and Gao Fu-qiang contributed equally to this work.

Corresponding author: Sun Wei, Chief physician, Associate professor, Master's supervisor, Doctoral supervisor, Department of Bone Joint Surgery, Osteonecrosis and Joint Reservation Reconstruction Center, China-Japan Friendship Hospital, Peking University, Beijing 100029, China

Research progress of metabolism and physiological functions of the lacunar-canalicular system

Shi Li-jun¹, Gao Fu-qiang², Sun Wei² (¹Department of Orthopedics, ²Department of Bone Joint Surgery, Osteonecrosis and Joint Reservation Reconstruction Center, China-Japan Friendship Hospital, Peking University, Beijing 100029, China)

Abstract

BACKGROUND: Interstitial fluid flow around the osteocytes caused by a series of physiological activities plays an important role in the osteocyte metabolism and signal transduction.

OBJECTIVE: To review and summarize the research progress of bone structures and physiological functions, then further illustrate how the mechanical loads make an impact on bone tissue.

METHODS: A computer-based search was conducted in PubMed database for articles related to the bone microstructure, metabolism and osteocyte signal transduction published from January 2009 to December 2015. The keywords were "osteocyte, mechanical load, permeability, lacunar-canalicular system, interstitial fluid flow, mechanotransduction, signaling pathways" in English. Data were screened firstly, dated articles or literatures with wrong research methods were excluded, and totally 40 eligible articles were enrolled.

RESULTS AND CONCLUSION: Bone tissue can quickly adapt to the change of mechanical environment to guarantee enough osteocytes in the functional bone area indicating that osteocytes regulate the bone absorption and formation by responding to stress, which is closely related to osteocyte physiological characters. Osteocytes exist in mineralized matrix, and the special microstructures make it possible to receive mechanical loads and transform the mechanical signals into chemical signals aimed at regulating the bone absorption or formation. So the interstitial fluid flow in the lacuna-canalicular system occurs, namely load-induced fluid flow, when the mechanical load is distributed on the bone. This fluid flow affects the bone tissue through two mechanisms: regulating osteocyte metabolism and participating in the mechanotransduction. In conclusion, the mechanical load plays a vital role in maintaining health bone and regulating bone adaptation.

Subject headings: Bone and Bones; Microtubules; Signal Transduction; Tissue Engineering

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81372013, 81672236; the Project of China-Japan Friendship Hospital, No. 2013-MS-27; the Science and Technology Plan for Youth Talents of China-Japan Friendship Hospital, No. 2014-QNYC-A-06

Cite this article: Shi LJ, Gao FQ, Sun W. Research progress of metabolism and physiological functions of the lacunar-canalicular system. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(42):6363-6370.

0 引言 Introduction

骨组织是一个动态的细胞性结构,能迅速适应功能性环境的变化,如增强运动可以使骨质增加,相反当长期卧床或长期处于失重状态时会导致骨质丢失。尽管人们已经普遍认为个体在进行生理性运动时作用于骨组织的机械性负荷对维持强健的骨骼系统非常重要,但是人们对骨组织感受机械环境变化并影响骨质改变的机制还不完全清楚。早期人们对骨组织的研究重点是骨细胞代谢的相关问题,由于骨细胞位于矿化的骨基质中,其通透性十分微小,骨细胞如何从周围获得营养物质并排出代谢产物是人们研究的焦点。研究发现生理性活动对骨组织代谢有重要作用,后来人们逐渐发现生理性活动不仅影响骨组织的正常代谢,还对骨组织发挥机械信号转导功能起重要作用。

骨组织进行正常代谢,发挥机械信号转导功能和

骨细胞及其所处微环境密切相关。骨组织的所有构成细胞通过孔隙相互连接,成骨细胞和骨衬细胞位于骨表面,产生骨基质,骨细胞位于矿化的基质中,其胞体发出很多细长的树突状突起,胞体与突起分别位于骨陷窝和骨微管内。骨细胞之间以及骨细胞和骨表面的细胞通过缝隙连接形成了一个相互交织的细胞网络,而胞体所在的骨陷窝与其突起所在的骨小管共同构成了骨陷窝-微管系统(Lacunar-canalicular system, LCS)^[1-2]。致密的皮质骨内还有另外一种形式的孔隙,即血管性孔隙(直径20-40 μm),主要是中央管和沃克曼(Volkman)管,其内包含有软组织、血管和神经。骨陷窝-微管系统是骨细胞与血液之间进行物质交换的主要通路,通过骨陷窝-微管系统骨细胞从血液中获得营养物质,排出代谢废物及信号分子等,同时骨陷窝-微管系统也是骨细胞发挥机械信号转导功能的主要场所^[3-4]。

骨陷窝-微管系统内组织液的流动对于维持骨细胞正常新陈代谢有重要意义。骨细胞维持正常生命和发挥生理功能需要摄入足够的营养物质、排出代谢废物以及信号分子的交换, 但是由空间浓度差引起的单纯溶质扩散十分有限, 不能维持骨细胞活性及发挥正常生理功能。Piekarski和Munro首次提出个体在进行正常生理活动时(如行走、跑步等)作用于骨组织的机械性负荷促使骨细胞胞体周围的组织液在骨陷窝-微管系统内流动, 进而增加血管性孔隙和陷窝-微管孔隙之间营养物质、代谢废物及信号分子之间的交换^[4]。通过测量骨陷窝-微管系统内的溶质交换, 可以为这个理论提供直接的证据。实验研究表明, 个体的正常生理活动可以引起骨组织骨陷窝-微管系统内液体的流动, 进而增强骨细胞与周围环境之间的物质交换^[4-6], 同时还可以刺激骨细胞产生生化信号分子, 传递给相应的效应细胞, 调节骨质形成或吸收。

由于骨细胞所处微环境的限制性, 组织液在骨陷窝-微管系统内的流动可以保证骨细胞获得足够的营养物质, 排出代谢废物及信号分子等, 进而维持正常生命, 同时这种液体流动还在骨组织发挥机械信号转导功能中起到关键作用。

骨组织能迅速适应功能性环境的变化与其机械信号转导功能密切相关。骨细胞可以感受机械信号的刺激, 并将这种机械信号转化生化信号, 通过产生调节分子分别作用于骨表面破骨细胞和成骨细胞调节骨质的吸收和形成^[7-10]。早期人们对于骨组织感受机械信号刺激的机制不十分了解, 后来人们发现胞体周围组织液在骨陷窝-微管系统内的流动对于骨细胞感受机械信号刺激十分重要, 随着研究的深入人们还发现由于结构的差异性, 骨细胞胞体和骨细胞突起对于机械刺激的敏感性也不相同。

由于单个骨陷窝-微管的直径量级十分微小, 早期对骨组织孔隙、渗透性、组织液流动的研究主要是包括分析性研究和示踪剂灌注研究。模型分析方法帮助人们探索了机械性负荷大小、频率和骨陷窝-微管系统解剖结构, 组织液流动之间的关系, 但是由于其本质是理想化的, 这种研究方法只能产生近似的结果。原位示踪剂灌注研究表明机械性负荷和示踪剂在骨陷窝-微管系统内的流动相关, 但是这种方法只能提供静态的示踪剂位点。近年来理论性、实验性和技术性的进步使得对骨组织孔隙、渗透性、组织液流动

的研究趋于量化, 增强了人们对骨陷窝-微管系统代谢和机械信号转导的认识。文章从组织到细胞水平对骨的结构和生理功能进行了较全面的分析和综述, 分析了骨组织代谢及机械信号转导功能的相关问题, 为研究骨科相关临床疾病的发生机制提供了理论基础。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

检索文献时限: 2009年1月至2015年12月。

检索数据库: PubMed数据库。

检索关键词: “osteocyte, mechanical load, permeability, lacunar-canalicular system, interstitial fluid flow, mechanotransduction, signaling pathways”。

检索文献类型: 关于骨微结构, 骨代谢和机械信号转导的文章。

1.2 纳入标准 ①文章所述内容需为骨微结构、骨细胞代谢、骨机械信号转导等结构和生理功能方面的相关报道; ②对资料进行初审, 选取近几年发表的相关性强的文献, 同一研究方面选择近期发表或在权威杂志上发表的文章。

1.3 排除标准 较旧的或者研究方法有误的文献报道。

1.4 筛选与提取 对资料进行初审, 选取近几年发表的相关性强的文献报道, 排除较旧的或者研究方法有误的文献报道。文献检索流程见图1。

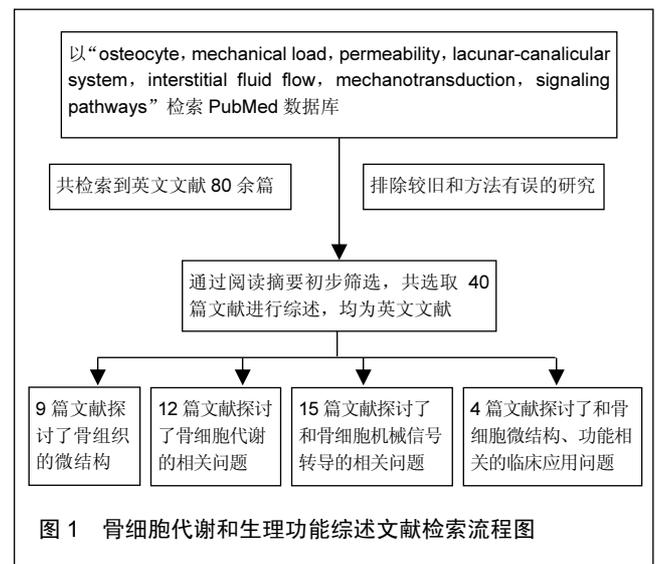


图1 骨细胞代谢和生理功能综述文献检索流程图

2 结果 Results

2.1 骨细胞微结构 骨组织的细胞包括骨表面的成

骨细胞、破骨细胞、骨衬细胞及坚硬皮质骨内的骨细胞, 骨细胞数量最多, 功能也最复杂。骨细胞位于矿化的基质中, 每个胞体发出很多细长的树突状突起, 胞体与骨基质之间的空隙称为骨陷窝(周径约为100 nm, 其内充满着组织液), 而胞体突起与基质之间的空隙称为骨微管(直径约为10 nm, 内有胶原样基质), 骨细胞之间以及骨细胞和骨表面的细胞通过缝隙连接形成了一个相互交织的细胞网络, 而胞体所在的骨陷窝与其突起所在的骨小管共同构成了骨陷窝-微管系统(图2)。同一骨单位的骨微管相通, 最内层骨板的骨微管与中央管相通, 从而形成了血管内血流和骨细胞之间的物质交换通路。

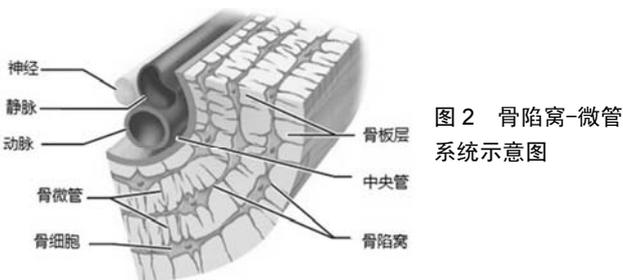


图2 骨陷窝-微管系统示意图

骨组织内存在2种性质的液体, 第1种是血液, 存在于中央管、沃克曼(Volkman)管内血管以及毛细血管网中, 为骨细胞提供营养物质、适宜的内环境并运出骨细胞产生的代谢废物, 对保证骨细胞新陈代谢, 维持正常生命起到重要作用。第2种是组织液, 位于骨内血管及骨细胞胞体周围的空隙中, 当个体进行生理活动时会引起组织液进出骨陷窝和骨微管, 即压力诱导性液体流动(load-induced fluid flow, LIFF), 在流动过程中完成溶质分子的转运并对骨细胞产生机械性刺激。

骨组织内物质交换有2种形式, 第1种是由空间浓度差异引起的单纯扩散; 第2种是压力介导性组织液流动产生的溶质交换, 由于矿化的基质通透性极低, 血液中营养物质, 代谢废物和信号分子等溶质分子主要通过组织液流动与血液进行交换。组织液在骨陷窝-微管系统内流动还可以使骨细胞产生反应, 分泌信号分子, 调节骨适应功能性环境的变化, 比如促进骨生长区和骨重建区破骨细胞的重吸收和成骨细胞的分泌等, 进而促进骨修复和生长。

2.2 骨陷窝-微管系统代谢的研究进展

2.2.1 压力诱导性液体流动

压力诱导性液体流动增强骨细胞与血管之间的溶质转运, 对保证骨细胞新陈代谢, 维持正常生命起到重要作用。个体在进行正

常生理活动(走路、跑步)时, 会对骨组织产生动态变化的压力, 使矿化的骨基质产生微小形变, 促使组织液在骨陷窝-微管系统内流动, 这种液体流动可以增加骨细胞与周围环境之间的分子交换^[11-12]。在对骨组织的早期研究中, 人们发现压力诱导性液体流动经过骨陷窝-微管系统对骨细胞代谢起重要作用, 方法主要包括分析性研究和示踪剂灌注研究, 但是这些研究方法都有一定的局限性, 不能真实的映应骨组织孔隙、渗透性、组织液流动的特点, 直接观察和定量分析骨陷窝-微管系统内液体流动和溶质交换的实验很少。最近研究人员发明一种新的实验方法——激光漂白后荧光恢复技术(FRAP), 首先向骨组织内注入示踪剂分子, 经过一段时间后用激光不可逆的漂白单个骨细胞陷窝, 随后用共聚焦成像技术观察周围示踪剂分子进入漂白后骨陷窝内的荧光恢复现象, 利用这种方法可以实时动态的观测溶质分子在骨陷窝-微管系统内的运动。

研究人员用这种方法进行试验^[12], 在试验中用荧光标记物代替生理性的溶质分子, 首先观察骨组织在不受外力作用状态下不同分子在骨陷窝-微管系统内的转运, 后来利用这种方法进行了更深入试验研究, 如在不同负荷参数(最大负荷、负荷持续时间、间隔时间)条件下溶质分子的转运情况。研究人员将共聚焦成像技术和机械性负荷成功的应用于FRAP进行测量和比较溶质的交换、组织液的流动。结果发现在给予周期性压力状态下(3 N, 0.5 Hz、间隔时间4 s)可以明显增强(比在无负荷条件下高30%)一些小分子示踪剂(钠荧光, 376 u)在骨陷窝-微管系统内的物质交换。根据实验所得数据进行计算, 研究人员预测在本实验压力状态下, 胞体周围的组织液会以约60 μm/s的速度通过骨微管。实验直接证明了在压力负荷状态下骨组织骨陷窝-微管系统内确实存在液体的流动, 而且可以增强溶质的转运。

压力诱导性液体流动通过骨陷窝-微管系统给骨细胞带来更多的营养物质, 同时也排出一些代谢废物及分泌的信号分子等。以下两点也从理论上间接支持压力诱导性液体流动对骨细胞代谢的重要作用: 骨细胞被矿化的基质包围, 血液和骨细胞之间溶质交换几乎不能通过基质进行, 只能发生在骨陷窝-微管系统内; 最后, 一些骨细胞离血供比较远(200-300 nm), 这些因素使得单纯的溶质扩散不能满足骨细胞尤其是远离血管的骨细胞的代谢需求。

2.2.2 骨陷窝-微管系统内容质分子的转运 骨陷窝-微管系统内容质分子的转运受分子量大小和分子形状的影响。通过骨陷窝-微管系统的溶质转运对于维持骨细胞正常生命和发挥生理功能是必不可少的,但是不同生物分子在骨陷窝-微管系统内的扩散速率的定量测量还比较少。利用最新的方法FRAP测量不同示踪剂(荧光素钠,葡聚糖-3k,葡聚糖-10k,血清蛋白和卵清蛋白)在小鼠胫骨骨陷窝-微管系统内的转运速率(DLCS)^[13],再进行比较分析,研究分子量和分子形状对物质转运的影响,这些分子的相对分子质量在376-43 000之间,分别为直线形和球形。在这5种分子中,葡聚糖-10 k没有发生荧光恢复现象,即不能通过骨陷窝-微管系统孔隙,其他4种分子在骨陷窝-微管系统内的渗透系数分别为(295±46), (128±32), (157±88), (65±21) $\mu\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ 。研究表明,溶质分子在骨陷窝-微管系统内的扩散速率和它们的形状及分子量密切相关,随着分子量的增加,直线型和球形分子的扩散速率均逐渐下降,但是直线形分子扩散速率下降更快。

通过研究溶质分子在骨陷窝-微管系统内的转运,还为研究骨细胞外基质微结构奠定了基础^[14]。骨细胞体及突起和矿化的基质之间有一定的间隙,其内充满着胶原基质和液体,当溶质分子和液体通过时会产生阻力作用^[15-18]。有学者认为,这种骨细胞外结构是均质性的,基质内分子之间相互交叉,形成孔径大小相同的分子网,即均质的分子筛模型。根据这种模型进行理论分析,溶质分子质量越大就越难通过这种细胞外基质,骨陷窝-微管系统内的转运速率越小,骨陷窝-微管系统内的转运速率和溶质在水溶液中的渗透率(Dfree)之比(DLCS/Dfree)越小。但是本试验中,不同大小分子量的示踪剂DLCS与Dfree之比并没有显著差异,与均质的细胞外模型不符合,因此研究人员提出了另外一种细胞外结构模型,即细胞外分子形成孔径大小不同的分子网(大的孔径区形成使得大分子物质快速通过)^[14, 19]。由于骨细胞微环境直径量级非常小,骨细胞外基质结构还有待进一步研究。通过研究细胞外基质结构可以为帮助理解不同营养物质和骨内信号分子的运动,帮助定量掌握一些常用药物,比如抗吸收性-二磷酸盐和甲状腺素在骨内的分布,为药剂合成和药物转运提供指导,保证药物成分在骨内的有效浓度。

2.2.3 骨内组织液的流动 骨内组织液的流动主要

由2种方式引起,第1种即压力诱导性液体流动,第2种是骨血管内血压变化引起,但是生理性血压并不能促进溶质在骨陷窝-微管系统内的转运^[20]。由于溶质分子在矿化的骨基质内扩散很少,所以有人提出机械性负荷以及血管性压力是促进组织液在骨陷窝-微管系统内流动的主要动力,并促进溶质分子的转运。尽管血液供应对于骨营养、骨生长及骨折愈合很重要,但是生理性血压能否促进组织液流动增强物质转运还存在争议。为了验证这个理论,研究人员用FRAP方法测量钠荧光在4只麻醉小鼠(生理性血压)胫骨骨陷窝-微管系统的转运速率,然后比较处死后小鼠(不存在血压的影响)相同部位钠荧光的转运速率,将两组数据进行对比。通过18组配对实验,实验人员没有发现在麻醉小鼠和处死小鼠溶质的转运速率存在差别($P > 0.05$)。实验表明尽管脉管系统在骨组织的生理中起到重要作用,但是并不能增强溶质分子在骨陷窝-微管系统内的转运。这和生理性血压频率、大小有关,但是具体机制还有待进一步研究。

2.3 骨陷窝-微管系统生理功能的研究进展

2.3.1 机械性信号刺激 骨细胞对机械性信号刺激具有敏感性,一个世纪以前人们就认识到骨组织可以通过改变骨结构和基质来适应功能性环境的变化,这就是著名的沃尔夫定律,即骨的生长、吸收、重建都与骨的受力状态有关^[21-23]。但是,当时并不知道骨组织如何将这种机械应力转化为调节骨吸收和骨生长的细胞性活动。

构成骨组织的细胞包括骨表面的成骨细胞和破骨细胞,分别调节骨质的生成和吸收,同时骨表面还有骨衬细胞,和成骨细胞平行排列;骨细胞位于致密的皮质骨中,数量最多,功能也最复杂,其中最重要的就是充当机械信号的感受器。早期人们不知道哪种细胞可以将机械信号转变为生物信号,也不知道什么样的机械信号才可以引起细胞反应。研究人员从鸡胚颅骨中分离出来单个骨细胞、成骨细胞和骨外膜表面的纤维母细胞分别进行体外试验^[24]。他们将3种细胞分别暴露于间歇性垂直压力以及脉冲性流体作用下,比较3种细胞的反应,骨细胞在脉冲性流体刺激下可以持续1 h连续分泌前列腺素E₂,但是成骨细胞及纤维母细胞却不能持续分泌。骨细胞和成骨细胞在间断性垂直压力刺激下较脉冲性流体刺激下产生的前列腺素量较少。试验结果表明,在将机械信号转化为生化信号的过程中,骨细胞才是最敏感的机械刺激感受

器。实验结果还表明骨细胞对液体流动刺激的敏感度较对垂直压力刺激的敏感度高。骨细胞对机械信号刺激的高敏感性以及对液体流动刺激的高敏感度使得骨组织能够对感受生理条件下动态压力变化,产生相应的细胞性活动,调节骨的生长、吸收和重建。

2.3.2 骨组织的结构 骨组织是一种动态的复杂的结构,可以根据受力状态的改变适应功能性环境的变化。这种生理现象和骨细胞密切相关,骨细胞占骨组织细胞总数的90%,它是主要的机械刺激信号感受细胞,在信号转导并调节和维持骨基质中起到关键作用^[25]。相互联系的骨细胞位于骨陷窝-微管系统内,其所处特殊的微环境结构使其可以发现不同形式的机械性刺激,比如机械负荷作用下的板层变形、组织液流动、以及液体流动对细胞膜产生的剪切力、垂直压力、流体电位等^[26-27]。骨细胞被激活后可以表达多种次级信号分子,如ATP、前列腺素E₂、骨保护素及其可溶性配体(sRANKL)、牙本质基质蛋白1(DMP-1)、骨硬化蛋白和成纤维生长因子(FGF23)^[3, 13, 20],并通过细胞间的缝隙连接或者细胞外空隙传递给骨细胞或者其他的效应细胞,发挥它们的调节功能。这些信号分子以及营养物质、代谢废物的转运对于骨细胞维持正常生命、发挥正常生理功能是必不可少的。通过研究骨细胞微结构以及骨细胞感受、转化机械信号刺激的过程可以增加人们对骨组织生理的理解,为探索一些骨科临床相关疾病如骨坏死、骨质丢失的发病机制的并提出相对有效的治疗方案提供帮助^[27-28]。

生理性活动不仅影响骨组织的正常代谢还是骨细胞机械刺激信号的主要来源,机械负荷引起组织液在骨陷窝-微管系统内流动是骨细胞识别的主要信号形式。个体在进行正常的生理活动时,会使骨基质板层结构发生形变,最初人们认为骨基质变形对骨细胞膜产生的垂直压力是骨细胞所受刺激的直接来源^[24, 29]。但是后来的研究发现,由于骨基质的矿化,骨组织硬度非常大,生理性负荷引起的骨质变形是非常微小的,并不能引起骨细胞的反应^[21]。生理性活动时,骨基质承受的张力变化范围在400-3000 $\mu\epsilon$ (0.04%-0.3%),而且绝大多数情况下为此范围的下界。但是,体外试验中,引起骨细胞产生反应需要的张力大小通常为5 000-10 000 $\mu\epsilon$ (5%-10%),并且骨细胞在承受1%的张力时就会破裂,因此在体内健康骨细胞无法承受如此大的张力^[29]。研究人员认为在生理性活动时,骨细胞一定经历着不同形式的机械张

力,和骨细胞体及突起周围的结构密切相关^[30]。新的体内和体外研究发现生理性运动时骨基质变形对骨细胞膜产生的垂直压力不是引起骨细胞反应的有效刺激,机械负荷引起组织液在骨陷窝-微管系统内流动是骨细胞识别的主要机械信号形式^[31-35]。

骨细胞位于骨陷窝-微管系统内,可以感受机械刺激信号并转化为生化信号,但是由于骨细胞胞体和突起内外结构的差异,同一细胞的不同部位对机械刺激的反应不同,在信号转导过程中发挥的作用有很大差别^[36]。骨细胞突起与骨微管壁之间的径向距离(50-100 nm)较细胞体和骨陷窝壁之间的径向距离(0.5-1 μm)小,液体流经骨微管时的速度远大于流经骨陷窝时的速度,对骨细胞突起膜产生的剪切力远大于对胞体膜的剪切力。研究人员使用斯托克斯流体探针分别刺激小鼠长鼓骨细胞的胞体和突起,刺激程度为< 10 pN,并测量细胞内的Ca²⁺反应。实验结果显示骨细胞突起对皮牛顿级的机械性刺激十分敏感,但是骨细胞胞体对这种量级的机械刺激敏感性较低。这种现象和骨细胞特殊的星状形态及细胞骨架有关,这对骨细胞感受机械负荷非常重要。骨细胞突起与胞体内骨架蛋白的构成有很大差别,前者细胞内由束状肌动蛋白通过丝蛋白相互交联,后者由非平行的相互交叉的由 α 辅肌动蛋白连接的肌动蛋白微丝构成,这种结构使得骨细胞突起硬度要比胞体高数百倍。这种结构自从细胞完成分化以后不会再发生改变,并且在机械信号转导过程中起到核心作用。

骨细胞胞体和突起在信号转导过程中发挥的作用不同,不仅和其内部结构差异有关还与他们的外部结构差异相关。骨组织显微结构研究表明,骨细胞突起膜与骨微管之间存在“链条”样结构^[36-40],组织液在骨陷窝-微管系统内流动经过这些“链条”样结构时,会对骨细胞突起膜产生牵拉力及径向的张力^[37]。这种牵拉力和张力要远大于生理性活动时骨组织承受的张力^[38-40],即张力放大效应,将组织水平的张力在细胞水平进行有效放大使骨细胞产生反应,释放调节信号分子。有几个重要的实验证据也支持这种理论:骨细胞超微结构研究表明,在骨细胞突起内存在规则排列的束状微丝,典型的就肌动蛋白微丝,而且骨细胞突起内蛋白微丝的硬度要大于胞体中微丝的硬度;其他电子显微镜证据表明,这种横向的“链条”样成分规律的排列在骨细胞分支的周围,并且将突起与矿化的骨小管连接起来,最新的研究提示基底膜蛋白多

糖就是这种“链条”样结构; 免疫组织化学法证明, 骨细胞分支包含CD44, 一种跨膜蛋白, 它的膜外区域是透明质酸的受体, 其胞内部分与肌动蛋白骨架相连。骨细胞突起及其与骨微管壁之间这种独特的结构以及其张力放大效应使得骨细胞突起成为机械信号的主要感受部位, 在机械信号转导过程中发挥核心作用。

3 讨论 Discussion

骨组织不仅构成了人体的承重系统, 而且它还是一个感受结构。骨的生长、吸收、重建都与骨的受力状态有关, 骨组织可以通过感受受力状态的变化, 调节骨质的形成和吸收。骨细胞是成熟骨质中数量最多的细胞, 骨细胞之间以及骨细胞与骨表面的线性细胞相互连接形成一个细胞网络, 贯穿于骨的基质。骨细胞这种特殊的解剖结构使得他们在骨组织中能够完美的感受作用于骨的机械性张力。在生理性运动时, 骨组织的微小变形可以引起骨陷窝-微管系统内液体的流动, 这对于维持骨细胞正常和发挥机械信号转导功能有重要作用。组织液流经骨陷窝-微管系统时可以增强骨细胞与周围环境之间的物质交换, 使得远离血管的骨细胞也能获得足够的营养物质, 同时还可以有效激活骨细胞, 使骨细胞分泌信号分子, 作用于下级效应细胞, 调节骨的吸收和生成。由于胞体和突起内外部结构存在差异, 骨细胞不同部位对机械刺激的反应也不同, 骨细胞突起在机械信号转导中起到核心作用。骨陷窝-微管系统不仅是构成骨内微环境的重要组成部分, 而且在调节骨内微环境的稳定、维持正常生理和免疫功能、以及介导疾病的发生、发展和转归等方面都发挥着重要作用。虽然现在新的研究方法不断出现比如显微CT等, 为研究骨组织结构和生理功能带来了很大的技术支持, 但是还没有一种方法是完全可靠的, 关于骨组织的生理还有待进一步研究。

作者贡献: 时利军和孙伟构思并设计综述, 分析并解析数据, 经孙伟和高福强修改审校, 所有作者共同起草。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不良行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] Wang B, Lai X, Price C. Perlecan-containing pericellular matrix regulates solute transport and mechanosensing within the osteocyte lacunar-canalicular system. *J Bone Miner Res.* 2014;29(4):878-891.
- [2] Komori T. Mouse models for the evaluation of osteocyte functions. *J Bone Metab.* 2014;21(1):55-60.
- [3] Lai X, Price C, Modla S, et al. The dependences of osteocyte network on bone compartment, age, and disease. *Bone Res.* 2015;3:15009.
- [4] Cardoso L, Fritton SP, Gailani G, et al. A review of recent advances in the assessment of bone porosity, permeability, and interstitial fluid flow. *J Biomech.* 2013 18;46(2):253-265.
- [5] Price C, Zhou X, Li W, et al. Real-Time Measurement of Solute Transport Within the Lacunar-Canalicular System of Mechanically Loaded Bone: Direct Evidence for Load-Induced Fluid Flow. *J Bone Miner Res.* 2011; 26(2):277-285.
- [6] Cowin SC, Cardoso L. Blood and interstitial flow in the hierarchical pore space architecture of bone tissue. *J Biomech.* 2015;48(5):842-54.
- [7] Gardinier JD, Townend CW, Jen KP, et al. In situ permeability measurement of the mammalian lacunar-canalicular system. *Bone.* 2010;46(4): 1075-1081.
- [8] Manolagas SC, Parfitt AM. Michael Parfitt. For whom the bell tolls: distress signals from long-lived osteocytes and the pathogenesis of metabolic bone diseases. *Bone.* 2013;54(2):272-278.
- [9] Nakashima T. Stress and cell communication between bone cells. *Clin Calcium.* 2013;23(11):1595-1603.
- [10] Komori T. Mechanism of bone mass regulation by mechanical stress. *Clin Calcium.* 2013;23(11):1559-1567.
- [11] Cardoso L, Fritton SP, Gailani G, et al. Advances in assessment of bone porosity, permeability and interstitial fluid flow. *J Biomech.* 2013;46(2):253-265.
- [12] Benalla M, Palacio-Mancheno PE, Fritton SP, et al. Dynamic permeability of the lacunar-canalicular system in human cortical bone. *Biomech Model Mechanobiol.* 2014;13(4):801-812.
- [13] Li W, You L, Schaffler MB, Wang L. The dependency of solute diffusion on molecular weight and shape in intact bone. *Bone.* 2009;45(5):1017-1023.

- [14] Wang B, Zhou X, Price C, et al. Quantifying load-induced solute transport and solute-matrix interaction within the osteocyte lacunar-canalicular system. *J Bone Miner Res.* 2013;28(5):1075-1086.
- [15] Weinbaum S, Duan Y, Thi MM, et al. An Integrative Review of Mechanotransduction in Endothelial, Epithelial (Renal) and Dendritic Cells (Osteocytes). *Cell Mol Bioeng.* 2011;4(4):510-537.
- [16] Qin YX, Hu M. Mechanotransduction in musculoskeletal tissue regeneration: effects of fluid flow, loading, and cellular-molecular pathways. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:863421.
- [17] Wu D, Schaffler MB, Weinbaum S, et al. Matrix-dependent adhesion mediates network responses to physiological stimulation of the osteocyte cell process. *Proc Natl Acad Sci US A.* 2013;110(29):12096-12101.
- [18] Kamioka H, Yamashiro T. Mechanosensitivity of osteocytes. *Clin Calcium.* 2012;22(5):697-704.
- [19] Ren L, Yang P, Wang Z, et al. Biomechanical and biophysical environment of bone from the macroscopic to the pericellular and molecular level. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2015;50:104-122.
- [20] Li W, Gardinier JD, Price C, et al. Does blood pressure enhance solute transport in the bone lacunar-canalicular system? *Bone.* 2010; 47(2):353-359.
- [21] Klein-Nulend J, Bakker AD, Bacabac RG, et al. Mechanosensation and transduction in osteocytes. *Bone.* 2013;54(2):182-190.
- [22] Florencio-Silva R, Sasso GR, Sasso-Cerri E, et al. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *Biomed Res Int.* 2015;2015:421746.
- [23] Li P, Liu C, Hu M, et al. Fluid flow-induced calcium response in osteoclasts: signaling pathways. *Ann Biomed Eng.* 2014;42(6):1250-1260.
- [24] Klein-Nulend J, van der Plas A, Semeins CM, et al. Klein-Nulend, van der Plas, Semeins, et al. Sensitivity of osteocytes to biomechanical stress in vitro. *FASEB J.* 1995;9(5):441-445.
- [25] Goldring SR. The osteocyte: key player in regulating bone turnover. *RMD Open.* 2015;1(Suppl 1):e000049.
- [26] Chen H, Senda T, Kubo KY. The osteocyte plays multiple roles in bone remodeling and mineral homeostasis. *Med Mol Morphol.* 2015;48(2):61-68.
- [27] Klein-Nulend J, van Oers RF, Bakker AD, et al. Bone cell mechanosensitivity, estrogen deficiency, and osteoporosis. *J Biomech.* 2015;48(5):855-865.
- [28] Moriishi T, Fukuyama R, Ito M, et al. Osteocyte network; a negative regulatory system for bone mass augmented by the induction of Rankl in osteoblasts and Sost in osteocytes at unloading. *PLoS One.* 2012;7(6):e40143.
- [29] Vaughan TJ, Mullen CA, Verbruggen SW, et al. Bone cell mechanosensation of fluid flow stimulation: a fluid-structure interaction model characterising the role integrin attachments and primary cilia. *Biomech Model Mechanobiol.* 2015;14(4):703-718.
- [30] Schaffler MB, Cheung WY, Majeska R, et al. Osteocytes: Master Orchestrators of Bone. *Calcif Tissue Int.* 2014; 94(1): 5-24.
- [31] Fritton SP, Weinbaum S. Fluid and Solute Transport in Bone: Flow-Induced Mechanotransduction. *Annu Rev Fluid Mech.* 2009; 41:347-374.
- [32] Gardinier JD, Gangadharan V, Wang L, et al. Hydraulic Pressure during Fluid Flow Regulates Purinergic Signaling and Cytoskeleton Organization of Osteoblasts. *Cell Mol Bioeng.* 2014;7(2):266-277.
- [33] Govey PM, Jacobs JM, Tilton SC, et al. Integrative transcriptomic and proteomic analysis of osteocytic cells exposed to fluid flow reveals novel mechano-sensitive signaling pathways. *J Biomech.* 2014;47(8):1838-1845.
- [34] Aiello BR, Iriarte-Diaz J, Blob RW. Bone strain magnitude is correlated with bone strain rate in tetrapods: implications for models of mechanotransduction. *Proc Biol Sci.* 2015;282(1810):pii:20150321.
- [35] Wijeratne SS, Martinez JR, Grindel BJ, et al. Single molecule force measurements of perlecan/HSPG2: A key component of the osteocyte pericellular matrix. *Matrix Biol.* 2015. [Epub ahead of print]
- [36] Thi MM, Suadicani SO, Schaffler MB, et al. Mechanosensory responses of osteocytes to physiological forces occur along processes and not cell body and require $\alpha\text{V}\beta\text{3}$ integrin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(52):21012-21017.
- [37] Wu D, Schaffler MB, Weinbaum S, et al. Matrix-dependent adhesion mediates network responses to physiological stimulation of the osteocyte cell process. *Proc Natl Acad Sci US A.* 2013;110(29):12096-12101.
- [38] Wang L, Dong J, Xian CJ. Strain Amplification Analysis of an Osteocyte under Static and Cyclic Loading: A Finite Element Study. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 376474.
- [39] Verbruggen SW, Vaughan TJ, McNamara LM. Strain amplification in bone mechanobiology: a computational investigation of the in vivo mechanics of osteocytes. *J R Soc Interface.* 2012; 9(75):2735-2744.
- [40] Bonivitch AR, Bonewald LF, Nicoletta DP. Tissue strain amplification at the osteocyte lacuna: a microstructural finite element analysis. *J Biomech.* 2007;40(10):2199-2206.