

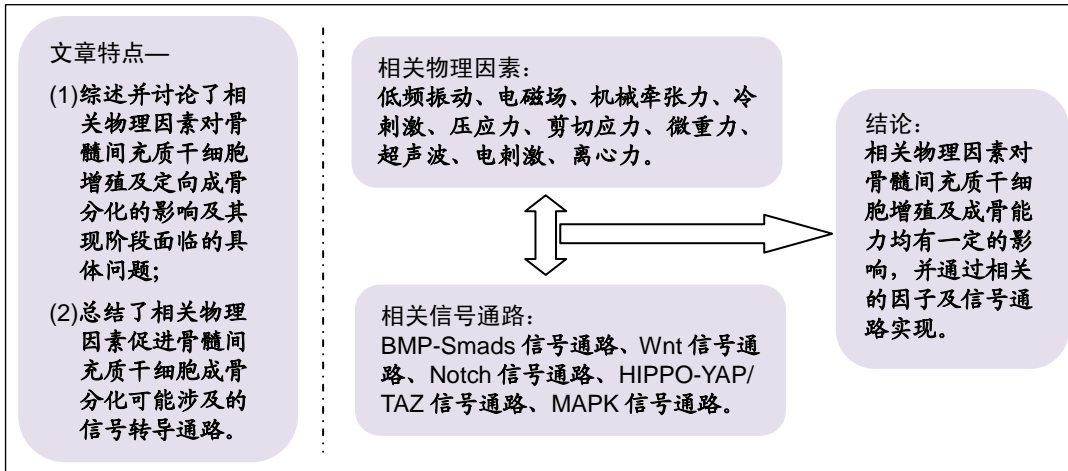
# 影响骨髓间充质干细胞成骨能力的相关物理因素及机制

崔鑫涛, 张震宇(哈尔滨医科大学附属第一医院, 黑龙江省哈尔滨市 150001)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.2132

ORCID: 0000-0003-4885-0920(张震宇)

文章快速阅读:



崔鑫涛, 男, 1994 年生, 河北省霸州市人, 汉族, 在读硕士, 主要从事骨替代材料的临床研究。

通讯作者: 张震宇, 博士, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 哈尔滨医科大学附属第一医院, 黑龙江省哈尔滨市 150001

文献标识码:A

投稿日期: 2019-11-15

送审日期: 2019-11-22

采用日期: 2020-01-04

在线日期: 2020-06-05



## 文题释义:

**骨髓间充质干细胞成骨分化:** 骨髓间充质干细胞既往称为骨髓基质成纤维细胞, 是一类起源于中胚层的成体干细胞, 具有自我更新及多向分化潜能, 可分化为多种间质组织, 在特定条件下可促进干细胞向成骨分化、诱导骨细胞增殖进而促进骨形成。

**信号转导通路:** 在细胞中各种信号转导分子相互识别、相互作用, 将信号进行转换和传递, 构成信号转导通路。当外界环境变化时, 单细胞生物可以直接做出反应, 多细胞生物则通过复杂的信号传递系统来传递信息, 从而调控机体活动。

## 摘要

**背景:** 促进干细胞向成骨分化、诱导骨细胞增殖进而促进骨形成, 被认为是治疗骨性疾病的重要研究方向, 大量研究集中在寻找促进骨髓间充质干细胞成骨分化的诱导因素上, 探讨骨髓间充质干细胞定向增殖和成骨分化的最佳诱导条件受到了越来越多研究者的关注。

**目的:** 综述并讨论相关物理因素对骨髓间充质干细胞增殖及定向成骨分化的影响及可能涉及的信号转导通路作用机制。

**方法:** 检索万方、中国期刊全文数据库(CNKI)、PubMed、GeenMedical 等数据库 2000 年 6 月至 2019 年 11 月期间关于影响骨髓间充质干细胞成骨分化相关物理因素的文章, 检索词为“骨髓间充质干细胞, 成骨, 分化”“bone marrow mesenchymal stem cells, osteogenesis differentiation”, 排除陈旧以及重复的观点, 将检索到的文献进行整理, 纳入 72 篇文献进行分析。

**结果与结论:** 相关力学因素(如压应力、剪切应力、牵张应力、微重力、低频震动)及电磁场、超声波、电刺激、冷刺激等对骨髓间充质干细胞增殖及成骨能力均有一定的影响, 并通过相关的因子及信号通路实现, 但其作用受移植部位微环境差异的影响, 并且某些物理因素还具有双重作用。在未来, 寻找不同微环境下对骨髓间充质干细胞具有最佳诱导作用的影响因素以及这些因素发生作用的机制, 将对干细胞的应用及组织工程的发展起到巨大的推动作用。

## 关键词:

骨髓间充质干细胞; 成骨能力; 物理因素; 力学因素; 干细胞; 通路

中图分类号: R459.9; R394.2; R681

Cui Xintao, Master candidate, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Corresponding author: Zhang Zhenyu, MD, Chief physician, Professor, Master's supervisor, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

## Physical factors and mechanisms affecting osteogenic ability of bone marrow mesenchymal stem cells

Cui Xintao, Zhang Zhenyu (First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China)

## Abstract

**BACKGROUND:** To accelerate osteogenic differentiation, induce cell proliferation and in turn promote bone formation is considered to be an important research direction in the treatment of osseous diseases. Numerous

studies have focused on looking for inducing factors that promote the osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells. To investigate the optimal conditions for inducing proliferation and osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells has been an increasing concern.

**OBJECTIVE:** To review and discuss the effects of physical factors related to the proliferation and osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells and the possible mechanisms of signal transduction pathways.

**METHODS:** To search for articles on physical factors affecting osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cell in WanFang, CNKI, PubMed, GeenMedical from June 2000 to November 2019, the search terms were "bone marrow mesenchymal stem cells, osteogenesis, differentiation" in Chinese and English, respectively. The old and repeated viewpoints were excluded, and finally 72 literatures were used for analysis.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Relevant mechanical factors (such as compressive stress, shear stress, stretch stress, microgravity, low-frequency vibration), electromagnetic field, ultrasonic wave, electrical stimulation, and cold stimulation, have certain effects on the proliferation and osteogenic ability of bone marrow mesenchymal stem cells, which are realized through relevant factors and signaling pathways. However, their effects are influenced by the microenvironment of the transplant site, and some physical factors show a dual effect. Future investigation on the influencing factors with the optimal induction of bone marrow mesenchymal stem cells under different microenvironments as well as the mechanism of these factors will greatly promote the application of stem cells and the development of tissue engineering.

**Key words:** bone marrow mesenchymal stem cells; osteogenesis ability; physical factors; mechanical factors; stem cells; pathway

## 0 引言 Introduction

最近,促进干细胞向成骨分化、诱导骨细胞的增殖进而促进骨形成,被认为是治疗骨性疾病的重要研究方向。骨髓间充质干细胞因其良好的多向分化潜能、强大的增殖能力且易于基因转染等特点,成为了再生医学和组织工程的重要来源细胞。在实验研究中常常采用密度梯度离心法分离获取骨髓间充质干细胞,并通过严格的鉴定标准进行细胞鉴定。临床上常采用茜素红染色、Von Kossa染色显示成骨细胞矿化结节或者通过定量细胞内分泌蛋白的表达来检测骨髓间充质干细胞的成骨分化功能,或采用分子生物学方法RT-PCR技术检测细胞内碱性磷酸酶、骨钙素、I型胶原、骨桥蛋白等的mRNA表达水平来反映细胞的功能状态<sup>[1-3]</sup>。目前,大量研究集中在寻找促进骨髓间充质干细胞成骨分化的诱导因素上,探讨骨髓间充质干细胞定向增殖和成骨分化的最佳诱导条件受到了越来越多研究者的关注,并成为国内外研究的热点。该文章综述并讨论相关物理因素对骨髓间充质干细胞增殖及定向成骨分化的影响作用及可能涉及的信号转导通路作用机制,以期丰富研究思路和理论依据。

## 1 资料和方法 Data and methods

### 1.1 文献检索和筛选要求

1.1.1 检索数据库 由第一作者检索万方、中国期刊全文数据库(CNKI)、PubMed、GeenMedical等数据库中发表的相关文章。

1.1.2 检索词 中文检索词:骨髓间充质干细胞,成骨,分化。英文检索词:bone marrow mesenchymal stem cells, osteogenesis differentiation。检索词的逻辑组配:

“(骨髓间充质干细胞AND成骨分化机制)OR(骨髓间充质干细胞AND成骨)”;

“(bone marrow mesenchymal stem cells AND osteogenesis differentiation)”。

1.1.3 检索的时间范围 2000年6月至2019年11月。

1.2 文献入选标准 将文献进行筛选,去除重复文献,

选择与研究目的和研究内容紧密联系的文献。

1.3 质量评估及数据的提取 计算机初检得到1 075篇文献,经资料收集者互相评估纳入文献的有效性和适用性,通过阅读文题和摘要进行初步筛选;排除中英文文献重复性研究,以及内容不相关的文献,最后纳入72篇文献进行综述。

## 2 结果 Results

2.1 骨髓间充质干细胞在组织工程中的应用 近年来,组织工程学作为一门新兴学科,已被列为进行体内或体外构建组织或器官的重要方法。骨髓间充质干细胞具有自身增殖能力强、分化范围广、取材方便、低免疫原性、易于基因转染等特点,并具有多种分化潜能,在特定的理化条件与细胞因子作用下,可诱导其向成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、成肌细胞、神经细胞等分化。这些生物学特性使它逐步成为临床治疗骨缺损、骨关节炎、骨坏死、骨折重塑等疾病的主要手段之一。

临床上常常将骨髓间充质干细胞复合于无机支架材料上,并将细胞-支架材料移植到骨缺损部位治疗因各种原因所致的骨缺损,并取得了良好的效果。DOGAN等<sup>[4]</sup>将骨髓间充质干细胞移植到含硼的聚乳酸-羟基乙酸共聚物支架中,结果显示支架可提高细胞内骨钙素、I型胶原蛋白表达水平。WEI等<sup>[5]</sup>实验证实聚己内酯支架可以促进骨髓间充质干细胞增殖和成骨分化,增强骨形成与骨整合。

骨髓间充质干细胞因其良好的免疫调节特性、抗炎和再生骨软骨的能力,可以预防甚至逆转关节退化、治疗股骨头坏死、修复椎间盘等。VEGA等<sup>[6]</sup>研究发现骨髓间充质干细胞能显著改善患者功能演算指数和软骨质量。FU等<sup>[7]</sup>将体外分离的兔骨髓间充质干细胞移植到兔股骨头坏死模型中,结果发现成骨相关基因骨形态发生蛋白2显著上调,证实骨髓间充质干细胞有利于股骨头坏死的治疗。LI等<sup>[8]</sup>发现骨髓间充质干细胞能明显提高椎间盘厚度和胶原水平,证实骨髓间充质干细胞对纤

维环的修复具有一定的作用。

## 2.2 骨髓间充质干细胞成骨分化相关信号通路

**2.2.1 BMP-Smads信号通路** BMP-Smads信号通路是参与调控间充质干细胞向成骨细胞分化及骨形成的关键信号通路之一,同时其自身也受到多种细胞因子的调节,从而在生物体内形成了复杂的调控网络。BMP在成骨分化过程中起着关键作用, BMP-Smads信号通路通过配体BMP与细胞膜上的丝氨酸/苏氨酸激酶受体结合,促进下游信号蛋白中的丝氨酸或苏氨酸磷酸化,将细胞外的信号传入细胞内,继而启动并激活成骨细胞特异性转录因子(如Cbfa1/Runx2、Osterix/Sp7等),从而诱导间充质干细胞向成骨细胞分化及骨形成<sup>[9-11]</sup>。但在此过程中, BMP-Smads信号通路也受到Smurf1的负性调节,该蛋白是E3连接酶中的重要组成部分,可介导BMPRI的调节,还能特异性识别和结合Runx2、Smad1,促使它们泛素化并被26S蛋白酶体识别和降解,进而负向调节BMP-Smads信号通路,从而抑制成骨细胞分化及骨形成<sup>[12]</sup>。

**2.2.2 Wnt信号通路** Wnt信号通路作为整合与协同其他信号通路的枢纽是成骨分化与骨形成的经典通路。通过调节成骨相关基因的表达或其他成骨信号通路等,促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化。在促进成骨分化方面根据有无 $\beta$ -catenin参与, Wnt信号通路分为经典信号通路与非经典信号通路2种,其中经典的Wnt信号通路是依赖于 $\beta$ -catenin的通路。 $\beta$ -catenin的过表达是开启Wnt信号通路的重要因素,通过促进骨髓间充质干细胞核内下游相关因子的启动和基因转录,进而促进骨髓间充质干细胞成骨分化<sup>[13-17]</sup>。经典Wnt信号通路在调节骨髓间充质干细胞成骨分化方面与BMP-Smads信号通路相似,最终都是通过作用于成骨相关因子Runx2而起作用。研究发现,经典Wnt信号通路在调节骨代谢过程中也扮演着重要角色, JAVAHERI等<sup>[18]</sup>研究发现 $\beta$ -catenin对小鼠出生后骨骼发育及骨量维持具有十分重要的作用。 $\beta$ -catenin基因突变可引起小鼠骨量减少及破骨细胞数量增加。MACSAI等<sup>[19]</sup>实验通过选择性敲除骨髓间充质干细胞内 $\beta$ -catenin基因可抑制正常成骨,并导致异位软骨细胞形成增加。另外, Wnt抑制因子1、骨硬化蛋白等作为Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的相关拮抗剂,也可通过作用于Wnts、Fzd及LRP5/6等受体或配体,间接调节骨量及成骨分化<sup>[17]</sup>。

**2.2.3 Notch信号通路** Notch作为保守的受体蛋白,其引导的成骨细胞分化的信号通路已被证实。体外研究发现,不同的激活方式使得Notch信号通路发挥了促进成骨与抑制成骨的双向作用,其中Notch受体蛋白通过激活Osterix/Sp7,上调细胞周期蛋白D、E,从而促进成骨分化;另一方面, Notch受体蛋白通过结合Runx2,使Runx2活性下降,从而抑制成骨分化<sup>[20-22]</sup>。另外,有

研究发现Notch信号通路还参与调节BMP-Smads及Wnt信号通路诱导骨髓间充质干细胞成骨分化及骨形成。还有实验证实骨髓间充质干细胞中NICD的过度表达对碱性磷酸酶活性起抑制作用,其途径是通过降低BMP-2及Wnt3a的表达。BMP-2还可以诱导Notch的目的基因HEY1的表达。综上所述, Notch信号通路可通过多种途径直接或间接参与调控成骨细胞分化及骨形成。

**2.2.4 HIPPO-YAP/TAZ信号通路** HIPPO-YAP/TAZ通路通过与其他信号通路之间的级联反应调控骨髓间充质干细胞的增殖及成骨分化。HIPPO信号通路与BMP-Smads、经典Wnt/ $\beta$ -Catenin及MAPK等信号转导通路均能发生级联反应,进而调节骨髓间充质干细胞的增殖及成骨分化,并且YAP/TAZ作为HIPPO信号通路中下游的转录共激活因子,在调控干细胞多向分化的过程中并非仅仅通过HIPPO信号通路独立完成,而是与多种分化相关通路相互配合完成,共同调节骨髓间充质干细胞的增殖及成骨分化<sup>[23-25]</sup>。

**2.2.5 MAPK信号通路** MAPK通路作为细胞增殖、应激、炎症、分化、功能同步化、转化、凋亡等信号转导通路的共同交汇通路之一,胞外信号经受体、G蛋白/小G、蛋白激酶、转录因子等组成的信号网络,传递到胞内,参与细胞增殖、分化、癌变、转移、凋亡等。研究认为, MAPK信号通路通过细胞外调节蛋白激酶1/2途径上调Runx2的表达,参与骨髓间充质干细胞成骨向分化过程。还有研究认为, MAPK信号通路可能介导骨髓间充质干细胞成脂向分化过程,抑制其成骨向分化<sup>[26-27]</sup>。p38信号途径是MAPK家族中的重要组成部分, p38-MAPK可以由细胞外的多种应激因素反应活化,如紫外线、放射线、热休克等。研究表明, BMP通过激活p38 MAPK-Smad信号通路增强C2C12细胞成骨分化,并通过影响成骨细胞生成和破骨细胞分化来改善骨质疏松<sup>[28]</sup>。

## 2.3 影响骨髓间充质干细胞相关物理因素

**2.3.1 低频振动** 微振动是指系统相对平衡位置幅度很小的周期性偏离,骨髓间充质干细胞作为力学敏感细胞,在体外适当机械刺激下,其增殖、分化等生物学特性发生功能性变化,并对力学刺激做出适应性应答。低频振动与肌肉运动时对骨骼产生的力学刺激相似,均为轻而短周期的力。研究发现,低频振动通过推动骨骼肌蛋白合成、抑制骨骼肌蛋白分解,对于肌肉萎缩性疾病具有一定的疗效<sup>[29]</sup>。实验研究发现骨髓间充质干细胞表面存在力学转导的相关蛋白,能将力学信号转导至细胞内发挥相关作用。细胞膜上的整合素、G蛋白和离子通道等感受到外界应力后,通过细胞骨架及相关信号通路将信号转导至细胞内,作用于细胞核<sup>[30-31]</sup>。YAP/TAZ、Wnt、MAPK等信号通路均为介导微振动刺激骨髓间充质干细胞分化调控的信号通路。ZHANG等<sup>[26]</sup>研究认为

MAPK信号通路通过调节细胞外蛋白激酶1/2途径上调Runx2的表达,参与低频振动诱导的骨髓间充质干细胞成骨向分化过程,进而促进成骨分化。实验研究证实,微振动刺激下蛋白激酶fyn与局部黏着斑激酶(FAK)向局部黏着斑趋化,使雷帕霉素靶蛋白2(mTORC2)活化,蛋白激酶B磷酸化,继而使肌动蛋白应力纤维增多,细胞骨架刚度增加,导致Ras同源基因家族成员A(RhoA)活性增加,yes相关蛋白(YAP)去磷酸化并入核,与PDZ结合域转录共激活因子(TAZ)相互作用,进而促进成骨分化、抑制成脂分化<sup>[32-34]</sup>。KIM等<sup>[35]</sup>研究发现低频振动作用下成骨相关标志物表达上升的同时,Wnt家族成员10B(Wnt10B)、 $\beta$ -连环蛋白( $\beta$ -catenin)表达显著上升,且使用Wnt信号通路抑制因子DKK-1(Dickkopf-1)特异性阻断Wnt通路后,Wnt10B、 $\beta$ -catenin、Runx2、OSX表达均明显下降,表明Wnt/ $\beta$ -catenin途径直接参与了微振动刺激骨髓间充质干细胞成骨分化的过程。研究发现低频振动作用于骨髓间充质干细胞后,在诱导其向成骨分化过程中,碱性磷酸酶活性增高,钙结节数目增加,OCN、OPG表达增加,RANKL表达下降<sup>[36-37]</sup>。结果表明,低频振动对骨代谢起正性调节作用,一方面可促进骨生成,另一方面可通过成骨细胞分泌的相关蛋白来抑制破骨细胞的生成。

综上所述,低频振动对骨髓间充质干细胞成骨分化具有一定的促进作用,但具体的作用效果与振动频率、幅度、作用时间及作用周期等有关,其参数选择对作用效果有重要影响。另外,低频振动影响骨髓间充质干细胞成骨作用的确切机制尚不完全清楚,可能涉及多种信号通路并相互作用,仍待进一步研究。

**2.3.2 电磁场** 最近研究发现,电磁场刺激既可以促进骨折愈合,也能加速软组织损伤的恢复,具体的作用效果与电磁场的波形、场强、频率、刺激持续时间及其他外界干预条件有关<sup>[38]</sup>。ROSS等<sup>[39]</sup>研究证实脉冲电磁场在骨生成早期明显促进碱性磷酸酶的表达,在中期则促进矿化,在后期则提高细胞数量,另外还可以促进Runx2表达进而促进骨髓间充质干细胞成骨分化。YONG等<sup>[40]</sup>研究发现电磁场会引起环磷酸腺苷(cAMP)水平升高,继而激活蛋白激酶A(PKA)及细胞外信号调节激酶(ERK1/2),说明电磁场是依赖PKA及ERK信号通路促进骨髓间充质干细胞成骨分化的。韦盛等<sup>[41]</sup>应用SYBR Green荧光染料技术行荧光定量PCR来检测电磁场组和白细胞介素1 $\beta$ +电磁场组骨髓间充质干细胞ALP、OPN、Runx2的基因表达,实验结果表明电磁场组和白细胞介素1 $\beta$ +电磁场组的ALP和OPN基因表达水平较对照组均有明显的提高,并且白细胞介素1 $\beta$ 、电磁场两者联合应用后可以发挥协同效应。Runx2基因表达水平在白细胞介素1 $\beta$ 组变化不明显,在电磁场组明显升高,在白细胞介素1 $\beta$ +电磁场组轻微增高。使用Western

blot检测到OPN和Runx2蛋白的表达与其对应基因表达趋势相似。研究证实电磁场可以有效促进骨髓间充质干细胞的成骨分化和细胞基质的矿化。由上可见适当参数的电磁场能够有效促进骨髓间充质干细胞的成骨分化,其机制可能是通过PKA及ERK信号通路实现的,具体过程仍需进一步研究。

**2.3.3 机械牵张力** 牵张应力是研究较早并且较为成熟的一种力学因素。正常人体组织及细胞一直处于动态牵拉应力的作用中。研究发现,体内牵拉应力通过细胞外基质传递到细胞内,是刺激骨髓间充质干细胞成骨分化的关键因素。BURR等<sup>[42]</sup>在骨髓间充质干细胞成骨分化过程中给予生理大小机械牵张力刺激可以促进其分化。QI等<sup>[43]</sup>给予骨髓间充质干细胞大小为2 000  $\mu$ strain牵张力时,骨髓间充质干细胞成骨分化能力较对照组明显提高。KOIKE等<sup>[44]</sup>对比研究也发现牵张力的大小对于骨髓间充质干细胞成骨分化具有双重作用,并且是通过某种信号传导通路实现的。SIMMONS等<sup>[45]</sup>研究认为p38-MAPK信号通路抑制牵张力促进骨髓间充质干细胞成骨分化。ZHANG等<sup>[46]</sup>研究发现p38-MAPK信号通路并不参与介导牵张力刺激骨髓间充质干细胞促成骨分化。近年来发现,Osterix作为成骨细胞特异表达的骨形成转录因子,在细胞成骨分化和骨生成中发挥重要作用<sup>[47]</sup>。KANG等<sup>[48]</sup>利用机械牵张力结合超声波刺激成骨细胞,观察其对细胞增殖及成骨分化的影响,结果发现细胞内osterix高表达,细胞成骨分化能力大幅提高。薛令法等<sup>[49]</sup>研究发现p38-MAPK信号通路与osterix之间存在正反馈的调节关系,阻断这一通路可抑制细胞内osterix的表达,并证实p38MAPK-Osterix信号通路介导牵张力刺激骨髓间充质干细胞促成骨分化。

综上所述,不同形式的牵张应力对骨髓间充质干细胞成骨分化的影响存在双重作用,适宜的牵张应力能够促进骨髓间充质干细胞成骨向分化,并且通过p38MAPK-Osterix信号通路促成骨分化。

**2.3.4 冷刺激** 研究证实,冷刺激会降低骨髓间充质干细胞增殖能力,其原因一方面是温度过低会损伤微血管的内皮细胞,使前列环素合成减少,血管活性物质生成增多,促使血小板的黏附和聚集,最终破坏骨髓微循环,导致骨髓间充质干细胞增殖能力下降,另一方面冷刺激直接损伤骨髓间充质干细胞膜减弱细胞膜的类脂质功能并诱导细胞内蛋白的变化<sup>[50]</sup>。罗依等<sup>[51]</sup>研究证明骨髓间充质干细胞在温度下降的过程中,容易引起“溶质损伤”或“胞内冰损伤”,影响细胞存活及增殖能力。聂义珍等<sup>[52-53]</sup>研究发现冷刺激使骨髓间充质干细胞呈纺锤状和成纤维细胞样改变,进而降低细胞的增殖能力。体外实验观察到冷刺激使细胞聚集且染色加深,并且发现冷刺激提高了成骨分化标志物Runt相关转录因子2、骨桥蛋白、骨涎蛋白和胶原蛋白1 mRNA表达,且

显著诱导了p38-MAPK的磷酸化, 而抑制剂SB203580的加入降低了这些标志物的表达, 并下调冷刺激引起的p38-MAPK水平的提高。由此得出冷刺激会降低骨髓间充质干细胞的增殖能力, 并且冷刺激可能通过p38-MAPK通路促进骨髓间充质干细胞向成骨细胞转化。

**2.3.5 压应力** 压应力指的是抵抗物体有压缩趋势的应力, 实验一般选用真空负压、气体正压或液柱产生正性静压力来使细胞受压。HUANG等<sup>[54]</sup>将骨髓间充质干细胞植入羟基磷灰石支架, 予以循环静水压的自动生物处理器中孵育3周, 结果发现骨钙素、骨桥蛋白、骨连接蛋白和I型胶原水平增高。静水压显著增强细胞活力, 促进成骨分化和成熟。STAVENSCHI等<sup>[55]</sup>对骨髓间充质干细胞施加幅度为10, 100, 300 kPa, 频率为0.5, 1, 2 Hz的循环静水压, 结果发现循环静水压诱导骨髓间充质干细胞早期成骨反应呈幅度和频率依赖性, 最强烈的促成骨反应出现在最高幅度(300 kPa)和最高频率(2 Hz)。姜喜亮等<sup>[56]</sup>通过对骨髓间充质干细胞施加适当的压力后提取RNA及蛋白, 检测重要信号分子FAK、整合素 $\beta 1$ (integrin $\beta 1$ )和整合素连接激酶(ILK)的表达, 发现整合素信号通路参与细胞力学信号向生物化学信号的转化, 在静水压力诱导细胞骨架结构改变中发挥一定作用。LIU等<sup>[57]</sup>通过施加静态或动态压应力刺激体外分离培养的大鼠骨髓间充质干细胞, 并定量检测分析细胞内BRANKL和OPG的mRNA水平, 结果发现骨髓间充质干细胞成骨分化的早期阶段暴露于静态或动态压应力均促进破骨效应, RANKL/OPG mRNA的表达水平上调。综上所述可知, 适当的压应力可能是通过复杂的信号转导通路促进骨髓间充质干细胞增殖和成骨分化, 其通路可能为整合素信号通路及RANKL通路等, 但是具体的调节机制目前尚不完全明确, 还需要不断的探索研究。

**2.3.6 剪切应力** 正常人体内由于组织间隙内的液体流动, 各类骨组织细胞持续暴露于荷载状态下的剪切应力中。研究发现, 剪切应力能够提高骨髓间充质干细胞的细胞活性及增殖能力。LIU等<sup>[58]</sup>对人骨髓间充质干细胞施加间歇性和连续性流体剪切力刺激, 发现前者较后者能更好地诱导成骨分化。VETSCH等<sup>[59]</sup>对人骨髓间充质干细胞施加不同流速的剪切力, 发现高流速(0.061 m/s)、高剪切力(0.55-24 MPa)可显著增强成骨分化。HU等<sup>[60]</sup>发现流体剪切应力作用下的成骨细胞通过激活TRPV4通道使 $Ca^{2+}$ 内流促进核心结合因子Cbfa1的表达, 从而诱导人骨髓间充质干细胞增殖。BECQUART等<sup>[61]</sup>实验研究证实剪切应力促进骨髓间充质干细胞成骨向分化是通过激活ERK1/2信号通路实现的, 并且剪切应力对骨髓间充质干细胞的促成骨作用较压应力更明显。由此看出, 剪切应力可以促进骨髓间充

质干细胞增殖和成骨向分化, 其发挥效应依赖于施加应力大小和作用时间, 并且是通过一定的信号转导通路实现的, 但具体的调节机制目前尚不完全明确, 还需探索研究。

**2.3.7 微重力** 最近研究发现当机体处于微重力环境中, 由于其自身重力消失, 骨细胞缺乏必要的力学刺激因素, 使细胞增殖及分化受到抑制。李煜等<sup>[62]</sup>通过旋转细胞培养系统模拟微重力条件, 对小鼠骨髓间充质干细胞进行成骨诱导, 结果发现碱性磷酸酶及与成骨相关的基因蛋白COL I、Runx-2表达显著下降, 并得出结论: 微重力条件能明显抑制骨髓间充质干细胞成骨分化。MAO等<sup>[63]</sup>利用恒温器模拟微重力条件培养骨髓间充质干细胞, 发现微重力抑制骨髓间充质干细胞的迁移, 其机制可能是通过重塑F-肌动蛋白和增加细胞硬度。LI等<sup>[64]</sup>在正常地面重力和模拟微重力下将人骨髓间充质干细胞成骨诱导0, 2, 7, 14 d, 通过RNA测序分析发现微重力抑制骨髓间充质干细胞增殖并抑制成骨分化。杨先炯等<sup>[65]</sup>采用平行平板旋转培养装置模拟微重力条件诱导骨髓间充质干细胞, 结果表明骨髓间充质干细胞的增殖受到抑制, 并且发现Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路可能介导了微重力效应诱导的骨髓间充质干细胞增殖抑制。杜静静等<sup>[66]</sup>实验研究也证实了微重力环境下会抑制骨髓间充质干细胞的成骨分化, 并发现微重力条件下细胞骨架、黏附性改变与mTOR信号通路等相互作用, 造成成骨抑制的发生。综上所述, 微重力条件可促进骨髓间充质干细胞增殖, 抑制骨髓间充质干细胞向成骨细胞的分化。

**2.3.8 超声波** 近年来超声波作为促进骨折愈合及治疗骨缺损的治疗手段已广泛应用于临床中。WARDEN等<sup>[67]</sup>研究发现 $< 100 \text{ mW/cm}^2$ 的低强度超声波能够刺激骨髓间充质干细胞早期基因c-fos及COX-2的表达, 并能提高骨基质蛋白ALP及OCN的mRNA水平。李亚明<sup>[68]</sup>研究发现体外联合低强度脉冲超声辐照可在一定程度上增强骨髓间充质干细胞成骨分化能力, 并且将构建的骨髓间充质干细胞-支架材料复合体植入裸鼠皮下, 低强度脉冲超声辐照后能有效提高骨髓间充质干细胞骨组织再生能力, 证实低强度脉冲超声可在一定程度上促进骨髓间充质干细胞成骨分化, 为低强度脉冲超声物理刺激应用于骨组织工程提供了一定的参考依据。

**2.3.9 电刺激** 近年来, 采用耦合外源和内生性电刺激促进骨再生和骨折愈合引起了越来越广泛的关注。王前等<sup>[69]</sup>在对骨髓间充质干细胞进行成骨诱导中施以微量直流电刺激, 刺激电流密度为 $100 \mu\text{A/cm}^2$ , 电刺激1, 2, 6, 12 h后发现细胞黏附能力得到提升。TSAI等<sup>[70]</sup>研究证实了电刺激促进人骨髓间充质干细胞的ALP、RUNX2表达, 从而具有促进成骨分化的作用。

**2.3.10 离心力** 最近研究发现, 离心力促进骨髓间充

质干细胞向成骨细胞分化。蒋斌等<sup>[71]</sup>对骨髓间充质干细胞实施不同大小的离心力, 结果发现较低转速(200 r/min与500 r/min)的离心力可促进骨髓间充质干细胞增殖, 其中500 r/min干预的促进作用最强, 而过高转速(800 r/min)的离心力表现为抑制作用。段峰等<sup>[72]</sup>给予成骨细胞不同转速离心力(90, 180, 250 r/min)和相同转速不同持续时间(6, 12, 24 h)的刺激, 显示离心力刺激可促进成骨细胞骨形态发生蛋白信号通路中Runx2 mRNA的表达, 且均随时间延长差异明显, 其中转速为180 r/min时作用最强。

### 3 总结与展望 Conclusions and prospects

骨髓间充质干细胞具有多向分化潜能, 在医学上也成为“多能细胞”, 其成骨活性的研究对骨缺损、成骨减少和障碍类疾病具有重要指导意义。在骨再生研究中, 许多研究者致力于各种因素对骨髓间充质干细胞成骨分化的影响, 其中物理因素作为非化学及创伤性刺激因素已取得了很大的进展。一些物理刺激如牵张力学及超声因素等因条件简单、操作方便已广泛应用于实际临床中, 但现阶段还会面临很多问题, 例如骨髓间充质干细胞增殖分化能力随年龄增长不断减退, 自我更新能力有限; 自体骨髓间充质干细胞的可用受限; 骨髓间充质干细胞受到移植部位微环境的差异影响及某些物理影响因素的双重作用等。在未来, 寻找不同微环境下对骨髓间充质干细胞具有最佳诱导作用的影响因素以及这些因素发生作用的机制, 将对干细胞的应用及组织工程的发展起到巨大的推动作用。

**作者贡献:** 第一作者崔鑫涛负责综述构思设计、文章写作校对、参与文献收集、分析总结, 通讯作者张震宇负责项目指导。全体作者都阅读并同意最终的文本。

**经费支持:** 该文章没有接受任何经费支持。

**利益冲突:** 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

**写作指南:** 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA指南)。

**文章查重:** 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

**文章外审:** 文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

**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。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

### 4 参考文献 References

- NEUHUBER B, SWANGER SA, HOWARD L, et al. Effects of plating density and culture time on bone marrow stromal cell characteristics. *Exp Hematol*. 2008;36(9):1176-1185.
- WULF GG, JACKSON KA, GOODELL MA. Somatic stem cell plasticity: current evidence and emerging concepts. *Exp Hematol*. 2001;29(12):1361-1370.
- DOMINICI M, LE BLANC K, MUELLER I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytherapy*. 2006; 8(4):315-317.
- DOĞAN A, DEMIRCI S, BAYIR Y, et al. Boron containing poly-(lactide-co-glycolide) (PLGA) scaffolds for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2014;44:246-253.
- WEI B, YAO Q, GUO Y, et al. Three-dimensional polycaprolactone-hydroxyapatite scaffolds combined with bone marrow cells for cartilage tissue engineering. *J Biomater Appl*. 2015;30(2):160-170.
- VEGA A, MARTÍN-FERRERO MA, DEL CANTO F, et al. Treatment of Knee Osteoarthritis With Allogeneic Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells: A Randomized Controlled Trial. *Transplantation*. 2015;99(8):1681-1690.
- FU Q, TANG NN, ZHANG Q, et al. Preclinical Study of Cell Therapy for Osteonecrosis of the Femoral Head with Allogenic Peripheral Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Yonsei Med J*. 2016;57(4):1006-1015.
- LI X, ZHANG Y, SONG B, et al. Experimental Application of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells for the Repair of Intervertebral Disc Annulus Fibrosus. *Med Sci Monit*. 2016;22:4426-4430.
- ZHANG J, LI L. BMP signaling and stem cell regulation. *Dev Biol*. 2005; 284(1):1-11.
- SHI Y, MASSAGUÉ J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell*. 2003;113(6):685-700.
- VARGA AC, WRANA JL. The disparate role of BMP in stem cell biology. *Oncogene*. 2005;24(37):5713-5721.
- LI S, LU K, WANG J, et al. Ubiquitin ligase Smurf1 targets TRAF family proteins for ubiquitination and degradation. *Mol Cell Biochem*. 2010; 338(1-2):11-17.
- LI E, ZHANG J, YUAN T, et al. miR-143 suppresses osteogenic differentiation by targeting Osterix. *Mol Cell Biochem*. 2014;390(1-2):69-74.
- BAGLIÒ SR, DEVESCOVI V, GRANCHI D, et al. MicroRNA expression profiling of human bone marrow mesenchymal stem cells during osteogenic differentiation reveals Osterix regulation by miR-31. *Gene*. 2013;527(1):321-331.
- SHI YC, WORTON L, ESTEBAN L, et al. Effects of continuous activation of vitamin D and Wnt response pathways on osteoblastic proliferation and differentiation. *Bone*. 2007;41(1):87-96.
- GLASS DA 2ND, BIALEK P, AHN JD, et al. Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. *Dev Cell*. 2005;8(5):751-764.
- MONROE DG, MCGEE-LAWRENCE ME, OURSLER MJ, et al. Update on Wnt signaling in bone cell biology and bone disease. *Gene*. 2012;492(1):1-18.
- JAVAHERI B, STERN AR, LARA N, et al. Deletion of a single  $\beta$ -catenin allele in osteocytes abolishes the bone anabolic response to loading. *J Bone Miner Res*. 2014;29(3):705-715.
- MACSAI CE, FOSTER BK, XIAN CJ. Roles of Wnt signalling in bone growth, remodelling, skeletal disorders and fracture repair. *J Cell Physiol*. 2008;215(3):578-587.
- LAI EC. Notch signaling: control of cell communication and cell fate. *Development*. 2004;131(5):965-973.
- ENGIN F, YAO Z, YANG T, et al. Dimorphic effects of Notch signaling in bone homeostasis. *Nat Med*. 2008;14(3):299-305.
- WATANABE K, IKEDA K. Osteoblast differentiation and bone formation. *Nihon Rinsho*. 2009;67(5):879-886.
- 顾客, 田慧, 李傲楠, 等. HIPPO-YAP/TAZ信号通路于干细胞分化相关信号通路交叉作用的研究进展[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2018, 28(11):667-672.
- MURILLO-GARZÓN V, KYPTA R. WNT signalling in prostate cancer. *Nat Rev Urol*. 2017;14(11):683-696.
- HUANG SM, MISHINA YM, LIU S, et al. Tankyrase inhibition stabilizes axin and antagonizes Wnt signalling. *Nature*. 2009;461(7264):614-620.
- ZHANG P, WU Y, JIANG Z, et al. Osteogenic response of mesenchymal stem cells to continuous mechanical strain is dependent on ERK1/2-Runx2 signaling. *Int J Mol Med*. 2012;29(6):1083-1089.

- [27] TANAKA SM, ALAM IM, TURNER CH. Stochastic resonance in osteogenic response to mechanical loading. *FASEB J*. 2003;17(2): 313-314.
- [28] HU N, FENG C, JIANG Y, et al. Regulative Effect of Mir-205 on Osteogenic Differentiation of Bone Mesenchymal Stem Cells (BMSCs): Possible Role of SATB2/Runx2 and ERK/MAPK Pathway. *Int J Mol Sci*. 2015;16(5):10491-10506.
- [29] KING LK, ALMEIDA QJ, AHONEN H. Short-term effects of vibration therapy on motor impairments in Parkinson's disease. *NeuroRehabilitation*. 2009;25(4):297-306.
- [30] HOTAMISLIGIL GS, DAVIS RJ. Cell Signaling and Stress Responses. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2016;8(10). pii: a006072.
- [31] FAHY N, ALINI M, STODDART MJ. Mechanical stimulation of mesenchymal stem cells: Implications for cartilage tissue engineering. *J Orthop Res*. 2018;36(1):52-63.
- [32] HONG JH, HWANG ES, MCMANUS MT, et al. TAZ, a transcriptional modulator of mesenchymal stem cell differentiation. *Science*. 2005; 309(5737):1074-1078.
- [33] DUPONT S, MORSUT L, ARAGONA M, et al. Role of YAP/TAZ in mechanotransduction. *Nature*. 2011;474(7350):179-183.
- [34] TANG Y, ROWE RG, BOTVINICK EL, et al. MT1-MMP-dependent control of skeletal stem cell commitment via a  $\beta$ 1-integrin/YAP/TAZ signaling axis. *Dev Cell*. 2013;25(4):402-416.
- [35] KIM IS, SONG YM, LEE B, et al. Human mesenchymal stromal cells are mechanosensitive to vibration stimuli. *J Dent Res*. 2012;91(12): 1135-1140.
- [36] BOYCE BF, XING L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys*. 2008;473(2): 139-146.
- [37] CECCARELLI G, BENEDETTI L, GALLI D, et al. Low-amplitude high frequency vibration down-regulates myostatin and atrogin-1 expression, two components of the atrophy pathway in muscle cells. *J Tissue Eng Regen Med*. 2014;8(5):396-406.
- [38] DAISH C, BLANCHARD R, DUCHI S, et al. Design, Fabrication and Validation of a Precursor Pulsed Electromagnetic Field Device for Bone Fracture Repair. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2018;2018: 4166-4169.
- [39] ROSS CL, SIRIWARDANE M, ALMEIDA-PORADA G, et al. The effect of low-frequency electromagnetic field on human bone marrow stem/progenitor cell differentiation. *Stem Cell Res*. 2015;15(1):96-108.
- [40] YONG Y, MING ZD, FENG L, et al. Electromagnetic fields promote osteogenesis of rat mesenchymal stem cells through the PKA and ERK1/2 pathways. *J Tissue Eng Regen Med*. 2016;10(10):E537-E545.
- [41] 韦盛, 杨勇, 赵东明, 等. 白细胞介素-1 $\beta$ 和电磁场对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的影响[J]. 骨科, 2019, 10(4):335-339.
- [42] BURR DB, MILGROM C, FYHRIE D, et al. In vivo measurement of human tibial strains during vigorous activity. *Bone*. 1996;18(5): 405-410.
- [43] QI MC, ZOU SJ, HAN LC, et al. Expression of bone-related genes in bone marrow MSCs after cyclic mechanical strain: implications for distraction osteogenesis. *Int J Oral Sci*. 2009;1(3):143-150.
- [44] KOIKE M, SHIMOKAWA H, KANNO Z, et al. Effects of mechanical strain on proliferation and differentiation of bone marrow stromal cell line ST2. *J Bone Miner Metab*. 2005;23(3):219-225.
- [45] SIMMONS CA, MATLIS S, THORNTON AJ, et al. Cyclic strain enhances matrix mineralization by adult human mesenchymal stem cells via the extracellular signal-regulated kinase (ERK1/2) signaling pathway. *J Biomech*. 2003;36(8):1087-1096.
- [46] ZHANG P, WU Y, DAI Q, et al. p38-MAPK signaling pathway is not involved in osteogenic differentiation during early response of mesenchymal stem cells to continuous mechanical strain. *Mol Cell Biochem*. 2013;378(1-2):19-28.
- [47] CHEN D, LI Y, ZHOU Z, et al. Synergistic inhibition of Wnt pathway by HIF-1 $\alpha$  and osteoblast-specific transcription factor osterix (Osx) in osteoblasts. *PLoS One*. 2012;7(12):e52948.
- [48] KANG KS, LEE SJ, LEE HS, et al. Effects of combined mechanical stimulation on the proliferation and differentiation of pre-osteoblasts. *Exp Mol Med*. 2011;43(6):367-373.
- [49] 薛令法, 张岱尊, 肖文林, 等. 机械牵张力促进小鼠骨髓间充质干细胞的成骨向分化[J]. 国际口腔医学杂志, 2017, 44(6):679-685.
- [50] PUTRI M, SYAMSUNARNO MR, ISO T, et al. CD36 is indispensable for thermogenesis under conditions of fasting and cold stress. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;457(4):520-525.
- [51] 罗依, 余勤, 丁伟, 等. 低温冻存对成人骨髓间充质干细胞生物学特性的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(2): 384-387.
- [52] 聂义珍, 闫朝岐, 付红梅, 等. 冷刺激对骨髓间充质干细胞增殖及成骨分化的影响[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2018, 11(6):577-583.
- [53] SODEK J, CHEN J, NAGATA T, et al. Regulation of osteopontin expression in osteoblasts. *Ann N Y Acad Sci*. 1995;760:223-241.
- [54] HUANG C, OGAWA R. Effect of hydrostatic pressure on bone regeneration using human mesenchymal stem cells. *Tissue Eng Part A*. 2012;18(19-20):2106-2113.
- [55] STAVENSCHI E, CORRIGAN MA, JOHNSON GP, et al. Physiological cyclic hydrostatic pressure induces osteogenic lineage commitment of human bone marrow stem cells: a systematic study. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9(1):276.
- [56] 姜喜亮, 朱晓文, 胡静, 等. 整合素信号通路在大鼠骨髓间充质干细胞牵张中的作用和转导机制[J]. 中国口腔颌面外科杂志, 2015, 13(3):193-199.
- [57] LIU J, ZHAO Z, ZOU L, et al. Pressure-loaded MSCs during early osteodifferentiation promote osteoclastogenesis by increase of RANKL/OPG ratio. *Ann Biomed Eng*. 2009;37(4):794-802.
- [58] LIU L, YU B, CHEN J, et al. Different effects of intermittent and continuous fluid shear stresses on osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Biomech Model Mechanobiol*. 2012;11(3-4): 391-401.
- [59] VETSCH JR, BETTS DC, MÜLLER R, et al. Flow velocity-driven differentiation of human mesenchymal stromal cells in silk fibroin scaffolds: A combined experimental and computational approach. *PLoS One*. 2017;12(7):e0180781.
- [60] HU K, SUN H, GUI B, et al. TRPV4 functions in flow shear stress induced early osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Biomed Pharmacother*. 2017;91:841-848.
- [61] BECQUART P, CRUEL M, HOC T, et al. Human mesenchymal stem cell responses to hydrostatic pressure and shear stress. *Eur Cell Mater*. 2016;31:160-173.
- [62] 李煜, 孙明林, 张新昌, 等. 微重力对骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化影响的研究[J]. 国际生物医学工程杂志, 2015, 38(5):257-261.
- [63] MAO X, CHEN Z, LUO Q, et al. Simulated microgravity inhibits the migration of mesenchymal stem cells by remodeling actin cytoskeleton and increasing cell stiffness. *Cytotechnology*. 2016;68(6):2235-2243.
- [64] LI L, ZHANG C, CHEN JL, et al. Effects of simulated microgravity on the expression profiles of RNA during osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Cell Prolif*. 2019; 52(2):e12539.
- [65] 杨先炯, 毛新建, 罗庆, 等. Wnt3a/ $\beta$ -catenin信号通路调节模拟微重力诱导的骨髓间充质干细胞增殖抑制[J]. 空间科学学报, 2016, 36(1):63-70.
- [66] 杜静静, 谭信. 模拟微重力下骨髓间充质干细胞成骨分化潜能及分子机理研究[J]. 生命科学仪器, 2018, 16(2):38-43.
- [67] WARDEN SJ, BENNELL KL, MCMEEKEN JM, et al. Acceleration of fresh fracture repair using the sonic accelerated fracture healing system (SAFHS): a review. *Calcif Tissue Int*. 2000;66(2):157-163.
- [68] 李亚明. 低强度脉冲超声促进大鼠牙囊细胞、骨髓间充质干细胞成骨分化的初步研究[D]. 重庆:重庆医科大学, 2016.
- [69] 王前, 郑磊. 电刺激促进成骨细胞粘附特性的实验研究[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2000, 21(1):46-49.
- [70] TSAI MT, LI WJ, TUAN RS, et al. Modulation of osteogenesis in human mesenchymal stem cells by specific pulsed electromagnetic field stimulation. *J Orthop Res*. 2009;27(9):1169-1174.
- [71] 蒋斌, 郑明辉, 张斌, 等. 三维载体培养下离心力对骨髓间充质干细胞增殖的影响[J]. 解剖学杂志, 2018, 41(1):1-4.
- [72] 段峰, 关键, 杨红岩, 等. 机械离心力对成骨细胞骨形态发生蛋白信号通路中 Runx-2 mRNA的影响[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(33):5305-5309.