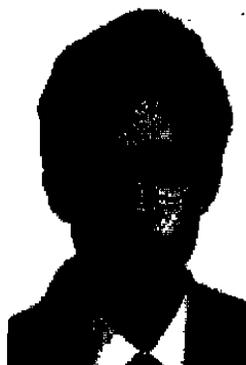


# 骨质疏松症治疗的生物物理学基础

夏志道 陈璐璐 刘忠厚



骨质疏松症(osteoporosis)是一种骨量减少,骨显微结构破坏,脆性增加,容易发生股骨颈、椎体和腕部骨折的疾病。目前对该疾病主要强调药物预防。然而,越来越多的证据显示,生物物理干预可能提供

一种安全、有效地抑制并逆转骨质疏松的方法,使骨量增加而不破坏骨的重建(remodling)过程。

骨质疏松症的临床表现出现在骨骼特定的承载部位(如股骨颈、腰椎)支持该疾病是骨形态/功能关系失常。尽管该疾病的自然进程表现为局灶性,而目前广泛采用的却是全身性治疗。这些治疗通过抑制、破坏或促进全身骨骼细胞的动力学因素而发挥作用,这与局灶性病因需要局灶性治疗的策略不符。

对于骨质疏松症的治疗,生物物理的作用与药物治疗形成鲜明的对比。骨生成的原则是形成有效的骨骼结构以承受载荷,而骨质疏松则表现为特定部位的骨质丢失,这意味着如果我们能够深入了解生物物理信号对骨重建的作用,将推动生物物理学方法在治疗这些疾病中的有效应用。

## 1 骨骼的力学性质

骨骼的力学性能参数来自对骨材料的实

测<sup>[1]</sup>。骨骼受力后会发形变,使骨发生形变的力的大小称为应力,以单位面积力的大小来表示;骨形变的大小称为应变,以骨受力后长度的改变与其原始长度的百分比来表示(0.1%的形变=1000微应变)。骨的力学性能以应变的大小来评价。应变是骨骼承载后的普遍产物,因此机械应变被认为是骨调节的局部信号。

动态骨骼力学测量可通过在体内直接安装应变计而获得。骨骼在运动中的最大应变称为峰值应变量,不同脊椎动物骨骼的峰值应变量测量值非常相似,其范围约从2000—3500微应变。这种“动态应变相似”提示骨组织的形态是通过功能活动引起的骨组织的特殊应变水平所调整<sup>[2]</sup>。

## 2 骨骼的电学特征

本世纪50年代,Yasuda(1954)最早报道干燥骨在加载时产生电流。Shamos和Lavine把这种机械力学引起的电效应称为压电效应,认为它起于骨骼胶原基质的形变<sup>[3,4]</sup>。这一负载诱导骨中的压电电荷的发现提示应力或应变能本质上改变骨细胞的生物物理环境,并影响其增殖和分化。Salzstein<sup>[5]</sup>和Mak<sup>[6]</sup>进一步发现在湿骨中,平行存在两种来源的电流,压电流产生于胶原的变形,另一个相对大电流的为应变诱导的细胞外液体带电成分流过充电基质产生的电动力流。

测量功能水平应变产生的电压显示骨中的

作者单位:430022,同济医科大学附属协和医院(夏志道 陈璐璐),100029,中国骨质疏松杂志社(刘忠厚)

作者简介:夏志道,男,生于1963年10月31日,现任同济医科大学附属协和医院骨科副教授,1984年大学毕业,1991年获医学硕士学位。主要从事骨基础研究,研究方向包括骨折愈合、骨移植替代材料、衰老相关骨疾病等。通讯地址:湖北武汉解放大道1277号同济医科大学附属协和医院骨科,邮编:430022,电话:027~5726103(0),5804409(H) e. mail: xiazd@public. wh. hb. cn

平均电场强度相当小,在  $1\mu\text{V}$ /微应变的量级。普通的成骨细胞在  $10\mu\text{m}$  数量级,但是能对  $10\mu\text{V}/\text{cm}$  的电场起反应。 $10\mu\text{V}/\text{cm}$  的细胞外电场将扰乱膜电位仅仅  $10\text{nV}$ 。这比正常膜电位低了 7 位数,因此,毫不奇怪对于制备的单个细胞不会引起任何反应。的确,通常电生理实验中膜电位改变必须至少达到  $100\mu\text{V}$  才足以引起单个细胞反应。因此,研究骨骼的生物物理性能中,最重要的是弄清骨细胞如何能识别微小的力学或电信号。

### 3 骨细胞对微小力和电信号的识别

为突破识别小的扰乱的问题,无论是力的或是电的,细胞必须象一个合胞体(syncytium)一样的工作,成为一个本征立体放大器(intrinsic spatial amplifier)。换句话说,由许多细胞立体整合,信号的合量能被放大,而不是单个细胞独立地对生物物理信号反应。该组织模型适合于大多数组织中的细胞,包括骨组织,通过缝隙(gap junction)连接形成电导通路<sup>[7,8]</sup>。

缝隙连接形成一维细胞阵列促进细胞对生物物理信号的识别的作用,且该作用能很容易地推广到二维。如果半径为  $R$  的  $N$  个细胞的集合归类为二维互连的全体,则该全体的有效半径将增加到  $N^{1/2}R$ 。同时,诱导的对该全体周围细胞膜电位的扰乱将增加到  $N^{1/2}$ 。理论上, $10\text{-nV}$  的变化能被简单形成二维全体的  $10^{10}$  个细胞的组织所识别。设定生物细胞直径在  $10\mu\text{m}$  的数量级上,这一数量的细胞将形成一个难以置信的庞大结构。

如果将这一理论进一步扩展到三维,就能解释互连细胞识别微弱生物物理信号的问题。尽管骨组织的精细结构相当复杂,在细胞水平基本上由圆柱状细胞群体组成。皮质骨骨单元在  $2.5\text{mm}$  长, $0.2\text{mm}$  直径的数量级。在圆柱形的结构上,细胞形成分散的互连网络。当垂直地扩展细胞群体时,不会增加膜电位扰乱的峰值,这是因为整体噪声将以整体细胞数量的平方根下降,导致膜噪声成分的下降。但是扩展细胞维

数的优点不是线性累积的。由于细胞质膜的通透性决定了细胞膜是不完全的绝缘体。因此比某一个小的空间常量长度(通常为  $1\text{mm}$ )大的细胞群体不会增加信号放大的效率。

通过将细胞置入类似于骨单元的圆柱形生理结构(长度与直径的比率为 25)的模型,并且选择细胞空间距离为  $20\mu\text{m}$ ,空间常量为  $1\text{mm}$ ,发现 20,000 个细胞的集合能容许组织对低至  $10\mu\text{V}/\text{cm}$  的电场起反应。这大约近似于骨单元中细胞的数量。

### 4 Wolff 定律与骨的适应性

早在 1638 年,伽利略首先发现负重与骨形态间的关系。1834 年 Bell 指出骨可以使用尽可能少的材料来承担载荷。1838 年, Ward 报告增加压缩载荷可以增加骨的形成。1867 年,瑞士 Herman Von Meyer 教授报告骨的内部结构与外部形态与所承受载荷的大小及方向有直接关系。1892 年,德国医学博士 Wolff 提出了关于骨变化的定律,即 Wolff 定律:骨功能的每一互变,都有与数学法则一致的确定的内部结构和外部形态的变化。

如果长骨仅仅是为了承重,按照力学规律,则骨骼应尽量保持其结构均一。即在最大应变的每一点上,或应变持续一段时间的每一点,骨皮质的每一区域都均一受力,构成对骨重建的同等刺激,这样骨骼应该是类似于圆柱形的均质结构。这与骨骼纵轴的曲率和横切面的不规则外形不符。

如果骨骼适应于引出均匀的应变分布,则仅需要最少骨量就能使峰值应变最小化。然而骨骼并非只承受轴向的重力。设想仅在长轴方向加载而要破坏一只铅笔,在力学试验机上很快就能发现这一努力是困难的。破坏一只铅笔最简单的方法是弯曲它。从这种设计的危害性作解释,骨的结构除了使骨骼轴向破坏的危害性最小化外,骨骼横切面的形态和纵向曲率肯定不仅仅是出于美感的理由而进行的装饰,伴随拮抗的和协同的肌肉的活动,都协力使骨

因弯曲而造成骨折的危险性最小化。

高度弯曲驱使骨皮质产生非均一的应变分布,因此骨适应可能受几个方面的应变调控。通过缝隙连接构成的细胞网络的促进作用,应变信息可能在细胞间交流而进行三维综合。这样,那些仅仅承受 $100\mu\epsilon$ 应变区域的细胞由于从毗邻承受非常高应变区域获得稳定的信号而能够抵抗吸收。这种“信息综合”的看法为 Gross (1995)的观察所证实,废用性骨丢失常常在整个皮质骨区域均一发生,尽管功能缺失引起的骨应变的净变化是相差甚远的。

病因学上,因衰老或代谢性疾病可能抑制缝隙连接的表达而引起信息传导过程的衰变,尽管生物物理信号依然存在,但是信号传输途径已经破坏了。

### 5 肌肉动力学在骨适应中的作用

运动是动物的基本特征。骨骼是运动杠杆,而肌肉是运动的动力器官。可见肌肉收缩是动物的主要生命过程之一。骨骼与肌肉之间的关系是显而易见的。在肌肉附着点处的骨骼形态即显示了肌肉对骨形态适应的影响。但由于肌肉收缩产生远比地面反作用力小的应变,其对骨形态的决定作用很少被考虑。

衰老骨中细胞与基质的相互作用受到抑制,这提示老化骨组织中应变信号不能有效转换。在完全归咎于细胞承担感受应变环境的蛋白质表达减少之前,有必要考虑衰老骨骼是否缺乏产生于功能活动的生物物理信号的决定性成分。从附加于骨骼的应变计记录结果表明,低值、高频的应变直接产生于肌动力。这些持续的,低值应变显示很强的生骨能力,可能是确定骨骼形态的强有力刺激因素。因此,如果有衰老(或绝经)导致肌肉振动的动力学改变,就能证明骨可能由于来自肌肉信号的衰减而衰退。

为了确定骨质疏松症病因的肌动力学, Foster 通过肌肉表面振动测量对功能老化的肌肉活动的频谱特点进行了研究。结果显示衰老令人注目地改变了肌肉收缩中特殊的频谱成

分<sup>[9]</sup>。由于衰老过程中肌肉活动高频成分显著下降,可能引起源自肌肉的骨骼调节信号减弱。伴随肌肉活动改变的高频骨骼应变成分的下降可能部分上解释即使采用高强度的训练,衰老中骨质仍难以维持。补充内生应变环境中的高频成分可能提供一种有效的治疗策略。

### 6 骨组织对力和电磁场刺激的反应

骨骼对机械力学刺激如此敏感,使得对骨质疏松症的症状发生于骨骼最大承载部位这一事实变得难以理解。显然,骨质减少将使给定负载的应变增大。既然应变增大,为何骨反而消失了呢?

显然,老化骨骼应变不会减少,而且由于骨质丢失应变还会变大。可能是细胞作为调整信号的形变被削弱了。Sun 通过火鸡尺骨模型证实在老化骨皮质的骨细胞,许多基质蛋白如 I 型胶原、骨连接素(osteopontin)和细胞粘附分子(如 integrin)mRNA 表达下降<sup>[10]</sup>。这些数据反映了细胞-基质的相互作用减弱,基质仍经历应变,但是调节信息肯定没有到达骨细胞。

老龄骨骼对大应变信号无反应并不意味着生物物理干预对骨质疏松症的失败。当改变力学信号至低值、高频时,不仅决定性的蛋白表达增高,而且刺激新骨形成<sup>[11]</sup>。

骨结构与功能的密切相关。力学刺激引起的形变可能通过细胞基质粘附分子和基质蛋白促进的途径被骨细胞感知和应答。对一个埋植于组织基质中的骨细胞,该形变在几个埃米的数量级上。由于骨间隙中应变诱导的液体运动导致细胞活动方式的改变,正如牵拉或压缩引起的海绵中水的流动一样。应变诱导的液体流动无疑会增加营养和代谢转运,这些液体的流动将同时引起骨组织的电动力学作用。

基于其调节骨形态的实验,电场被用于临床治疗骨质疏松症。使用于骨质疏松症治疗的信号为复合脉冲电磁场(PEMFs)。因为磁场强度的上升时间的改变导致脉冲周期和波宽变化,骨调节效应与特殊 PEMF 信号能量的频谱

分配有关。骨膜新骨形成显著相关于垂直于骨膜表面电场强度。

有关资料表明,电磁场治疗 44 例女性骨质疏松症病人,采用电磁场治疗 3、6、12 个月后,骨密度平均增长了 3.31%、6.60%和 7.5%。

尽管电场调节骨细胞活动的的能力依赖信号的频率和强度,以及细胞的生物物理状态或细胞数量,电场暴露的效果是抑制细胞的生长。 $6\mu\text{V}/\text{cm}$  的电场诱导于 30Hz 将抑制中等密度 ( $2000,000/\text{cm}^2$ ) 的成骨细胞活动,但对于稀疏 ( $70,000/\text{cm}^2$ ) 或高融合 ( $500,000/\text{cm}^2$ ) 培养不影响细胞生长和表型表达。这些电场同样的骨调节效果在破骨细胞研究中被观察到。使用鼠骨髓培养系统,暴露于低电场 4 天,破骨细胞募集抑制了 40%。

## 7 生物物理干预的临床应用前景

毋庸置疑,生物物理刺激对结构上适当的骨质形成和维持是十分重要的。这些对维持有效骨骼结构具有决定性作用的因素有巨大的临床应用潜力。与系统的药物预防如雌激素、二磷酸盐或降钙素相比,这种生物物理干预的特点是保持骨组织的自然状态,低强度而安全,合并了骨重建循环的各个方面。然而,在对这些信号细胞和亚细胞水平如何作用得到深入了解之前,生物物理刺激对骨骼疾病治疗的广泛应用无疑将会被推迟。

在器官水平上,生物物理信号作为功能环境正常的生理成分而存在;这些高频低值的应变能相关骨调节在组织与细胞水平得到评估。如果  $100\mu\text{e}$  的力学信号在 1Hz 频率时没有影响,在 10—16Hz 时则具有强有力的成骨能力。即使能量由电刺激产生,骨对生物物理信号的频率选择性仍保持稳定。 $1-10\mu\text{V}/\text{cm}$  的电场在低于 5Hz 时无效应,但在 15—50Hz 时成为强效。

对生物物理调节骨生理的流行的理解是这些信号必须大到具有任何形态学上的效果。然而器官、组织、细胞水平的工作显示,如果诱导于合适的频率范围,低值的力学或电信号可能极具成骨性。生物物理干预是否将代替药物而预防骨质疏松症尚不能确定,但不是不可能的。

## 参 考 文 献

- 1 刘普和,邝华俊,吴幸生 主编. 医学物理学 第一版 人民卫生出版社 北京 1980
- 2 Rubin C and Lanyon L. Dynamic strain similarity in vertebrates: An alternative to allometric limb bone scaling. *J Theor Biol* 1984;107:321
- 3 Shamos MH and Lavine LS. Piezoelectric effect in bone. *Nature*. 1963;197:81.
- 4 Shamos MH and Lavine LS. Physical bases for bioelectric effects in mineralized tissues. *Clin Orthop* 1964;35:177
- 5 Salzstein R, Pollack S, Mak A et al. Electromechanical potentials in cortical bone. 1. A continuum approach. *J Biochem* 1987;20(3):261
- 6 Mak A. Stream potential in bone. *Exercise Sports Sci* 1989;17:175
- 7 Donahue H, McLeod K, Rubin C et al. Cell to cell communication in osteoblastic networks, Cell line dependent hormonal regulation of gap junctions composed of connexin43. *J Bone Miner Res* 1995;10:881
- 8 Saez J, Berthoud V, Moreno A et al. Gap junctions-multiplicity of controls in differentiated and undifferentiated cells and possible functional implication. In *Advances in Second Messenger and Phosphoprotein Research* (Shenolikar A and Nairn AC Eds) Raven Press New York 1993; pp163
- 9 Froster K and Schwan H. Dielectric properties of tissues and biological materials: A critical review. *Crit Rev Biomed Eng* 1989;17(1):25
- 10 Sun Y, McLeod K and Rubin C. Upregulation of collagen type 1 mRNA following mechanical loading as measured by in situ-RT PCR. *Trans Orthop Res Soc* 1995;20(2):290
- 11 Rubin C and McLeod K. Promotion of bony ingrowth by frequency specific, low amplitude mechanical strain. *Clin Orthop Rel Res* 1993;298:165