

骨微损伤形成与修复机制的研究进展

韩焱 王双磊 李展春*

上海交通大学医学院附属仁济医院骨科,上海 200127

中图分类号: R683 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2017) 05-0683-07

摘要: 骨微损伤是在光学显微镜下能够观察到的骨基质损害,骨微损伤的产生、发展与疲劳载荷有关,骨微损伤能够启动骨重建来进行修复,但不同微损伤类型对骨重建的影响不同。骨微损伤有五种类型,目前研究多集中在线性微裂纹与弥散性微损伤,它们具有完全不同的形态特征和修复方式。本文通过对骨微损伤的分类、检测方法、形成及修复机制进行综述,深入研究神经肽对骨重建的作用,旨在进一步探讨骨微损伤的修复机制,为骨质疏松性骨折的防治奠定基础。

关键词: 骨微损伤;骨重建;骨质疏松;修复机制;神经肽

Research progress on the development and repair mechanisms of bone microdamage

HAN Yi, WANG Shuanglei, LI Zhanchun*

Department of Orthopedics, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 20012, China

Corresponding author: Li Zhanchun, Email: renjiguke@163.com

Abstract: Bone microdamage is generally defined as matrix failure detectable by light microscope. The accumulation and development of bone microdamage is associated with fatigue loading. Bone remodeling can be activated to target the repair of bone microdamage. But different types of bone microdamage have different effects on bone remodeling. There are five types of bone microdamage. Most research are focused on the linear microcrack and diffuse microdamage, and they have completely different morphological characters and repair mechanisms. This paper reviews the classification, measurement, development and repair mechanisms of bone microdamage, evaluate the role of neuropeptide on bone remodeling, with the aim of further exploring the possible repair mechanisms of bone microdamage and laying the foundation for the prevention of osteoporotic fracture.

Key words: Bone microdamage; Bone remodeling; Osteoporosis; Repair mechanism; Neuropeptide

1960年,Frost最先提出骨微损伤的概念,即活体内因骨疲劳而引发的长度约为30~100 μm的显微裂隙^[1]。骨微损伤能够启动骨重建,生理状态下,骨微损伤的产生与骨重建修复处于动态平衡之中,平衡破坏后会造成骨微损伤的累积,造成骨质疏松性骨折。研究骨微损伤在机械和生物学之间的作用关系以及不同微损伤类型的修复方式,有助于揭示骨质疏松性骨折的机制,并为其预防和治疗提供新的思路。

1 骨微损伤的分类

在形态学上骨微损伤可分为五类:线性微裂纹、

弥散性微损伤、染色性交叉岔折、束状微损伤和显微骨折。其中线性微裂纹最为常见,是指骨横断面上轮廓锐利、长度为50~100 μm的细小破裂^[2],通常出现在皮质骨上。用大块组织碱性品红染色时,线性微裂纹表现为两端尖锐的线状红色深染区,周围有红晕,它两端较钝,可以和骨陷窝相连接。在人椎体上,线性微裂纹出现在骨小梁的中央或靠近骨表面。在骨小梁的中央时,常单个出现,定位在黏合线和裂隙骨基质。在骨小梁表面,多条线性微裂纹常同时存在。弥散性微损伤则由密集分布的超微破裂损伤聚集而成,主要位于小梁骨的表面区域,在男性骨骼中的分布多于女性^[3]。碱性品红染色时,弥散性微损伤表现为片状红染区域。在所有的损伤类型中,弥散型损伤更容易、更早出现^[4]。染色性交叉岔折也称网状线性裂纹,是指很多的细小裂纹存在于骨小梁上,组成局部的网络状^[5]。碱性品红染色

基金项目: 国家自然科学基金(81370976);上海交通大学医工交叉研究基金(YG2014MS41)

* 通讯作者: 李展春,Email: renjiguke@163.com

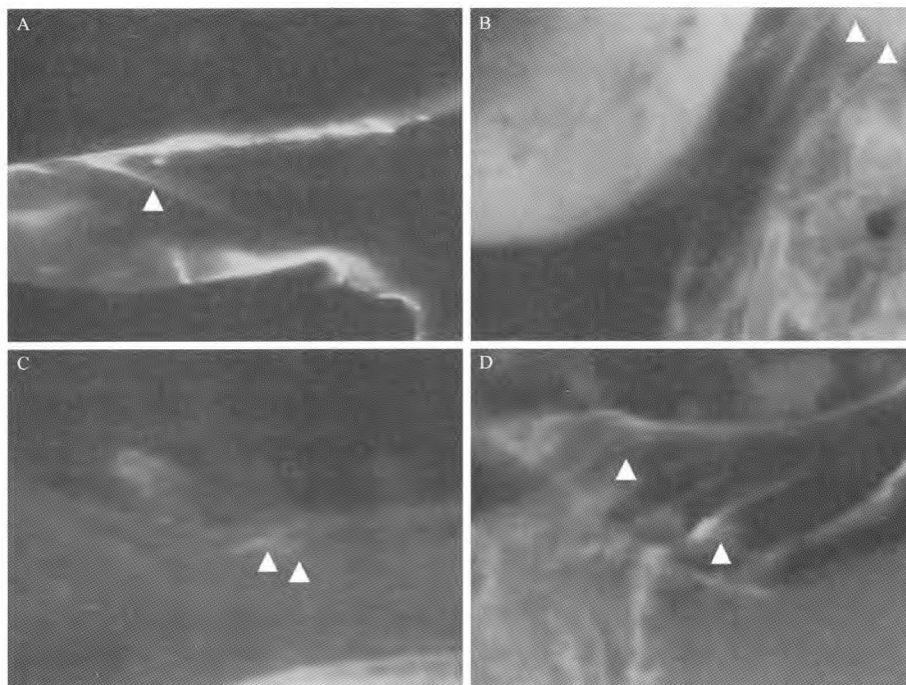


图1 不同类型骨微损伤形态学图片(钙黄绿素染色)。A:线性微裂纹^[7];B:弥散性微损伤;C:染色性交叉岔折;D:束状微损伤

Fig. 1 Pictures of different types of microdamage (stained with calcein). A: A linear microcrack^[7]; B: Diffuse microdamage of bone; C: Cross-hatching microdamage; D: Wispy microdamage of bone

时,染色性交叉岔折是局部面积较大的网状交叉深染形态,为广泛的红色区和许多类似微破裂的深染区交织在一起。束状微损伤是指在显微镜下可见的板层间束状或条索状的染色涂层^[2],与线性微裂纹不同,束状微损伤分支广泛,无视骨显微结构边界并穿过骨黏合线或骨板^[6]。显微骨折表现为骨小梁的完全断裂,几乎全部发生于老年人。

2 骨微损伤的检测方法

2.1 普通光镜、荧光显微镜和激光扫描共聚焦显微镜(LSCM)观察

通过光镜、荧光显微镜和激光扫描共聚焦显微镜均能观察到线性微裂纹和弥散性微损伤,但荧光显微镜能显示普通光镜下难以分辨的染色较浅的显微损伤,荧光显微镜显示的损伤骨表面比率、损伤骨厚度和损伤骨面积均大于普通光镜所示,这是由于部分染色较浅的裂纹仅能在荧光显微镜下显示。与光镜、荧光显微镜相比较,LSCM的优点是可以对不同深度的平面进行连续扫描,对扫描后图象进行三维重建,具有较高的空间分辨率,可以发现较小的裂纹^[8]。但由大量密集相互交叉的超微裂纹聚集而

成的弥散性微损伤,即使是共聚焦显微镜也难以分辨。在使用显微镜进行观察之前还需要对骨样本进行染色等一系列处理,常用的染色方法有:碱性品红染色法、醋酸铀酸铅染色法、品红荧光法和荧光染料法。

碱性品红染色法使用溶于酒精中的碱性品红溶液对微损伤进行染色,是检测骨微损伤的常用方法。Frost应用大块标本骨染色技术来区分骨微损伤的来源,因为只有切片前已存在的骨裂缝可以着色,而切片过程中的人为裂纹不会着色,这样可以将切片制备前已经形成的骨微损伤与切片制备过程中造成的微损伤区别开来。这种染色方法优点是操作相对简单而且经济,缺点在于往往染色过浅,给观察带来一定困难。其主要步骤为:新鲜骨组织经乙醇固定后,使用碱性品红溶液染色,再经甲基丙烯酸甲酯浸泡包埋,最后经过锯片磨片封片处理后观测。染色的深浅程度与染色溶液浓度、试剂种类、来源、染色时间、染色时所处的负压大小、温度以及骨的密度有关。此外,还有大块组织醋酸铀酸铅染色法^[9]、品红荧光法和荧光染料法等。醋酸铀酸铅染色将微损伤染成黑色,制成的骨组织切片可用扫描电镜来观

察。而品红荧光法是在荧光显微镜下观察,这是因为碱性品红既可以在透射光下显色,也可以吸收波长为 545 nm 的光线,被激发后透过红色滤光片可看到桔黄色的荧光^[8]。该方法易于鉴别微损伤的各种形态,并且可以进行准确的测量。由于品红染色是一种占位的染色方法,因此它的位置特异性受到影响,也不能反映裂纹生长的过程,荧光染料的动态标记有望解决这些问题,常用的荧光染料有茜素、四环素、钙黄绿素三种物质,它们可以和钙离子结合,分别被激发出红色、黄色及绿色荧光。荧光染料可以用来观察损伤的修复情况,具有很好的位置特异性^[8],在动物处死前注射荧光染料进行标记,利用不同荧光染料的连续标记可以计量裂纹的积累速率和增长速度,也可以对新骨进行标记来反映骨的修复和重建。荧光染色的敏感性大于等于品红染色,这种方法可以准确的区分人为和本来就存在的显微损伤^[8]。

2.2 原子力显微镜(AFM)

原子力显微镜用于观察骨超微结构,其分辨率可达 1 nm,能确定局部的微应变($\mu\epsilon$)大小,辨认出微裂纹两侧的胶原蛋白/磷灰石边界^[10]。

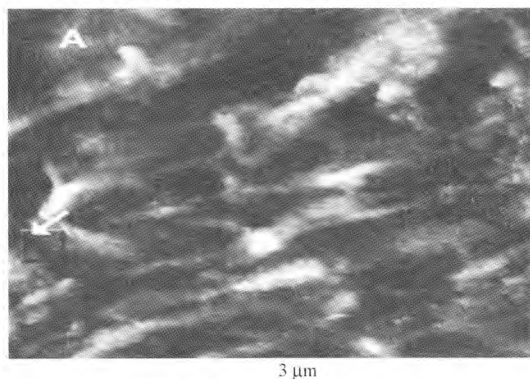


图2 原子力显微镜下骨小梁断裂面的形态学图像^[10]

Fig. 2 AFM tomography image of the fractured surface of a trabecula^[10]

2.3 扫描电子显微镜(SEM)

扫描电子显微镜可以用来观察重金属(如醋酸铀酸铅)染色后的微损伤,在研究微裂纹扩展时,电子显微镜有助于辨认出主裂纹周围骨基质中的损伤区域。近年来,电子显微镜多用于观察金-钡溅射镀层处理的骨样本^[9]。

2.4 声发射技术(AE)

声发射技术通过压电转换器来检测骨微损伤,

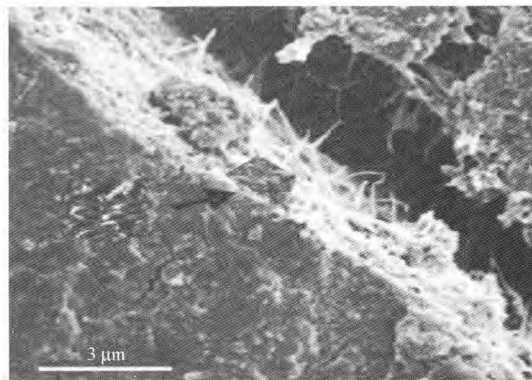


图3 骨小梁微裂纹的扫描电镜图像,图中箭头所示为原子力显微镜下图像在扫描电镜图像上的对应区域^[10]

Fig. 3 SEM image of trabecular bone microcrack. The insets show the corresponding AFM image scaled to fit the dimensions of the SEM image^[10]

它将弹性应力波转换成低振幅震荡电压,当震荡到达事先设好的电压阈值时,产生了振铃信号。微裂纹会释放大量的弹性波从而产生大量的振铃信号。研究指出 AE 的波形(包括总能量、总振幅、第一和第二能量以及振幅时间)可以用来区别骨组织中线性微裂纹和弥散性微损伤的形成^[9]。

2.5 Micro-CT(μ CT)

与上述组织学观察需要制作骨的不脱钙切片相比, Micro-CT 是一种非破坏性的 3D 成像技术,不需要制备切片而只需要简单的固定,可以在不破坏样本的情况下清楚了解样本的内部显微结构,空间分辨率达 10 μ m,能精确计算出标本骨量参数,检测骨结构参数,还能够动态观察微损伤,反应其随时间的累及过程。Micro-CT 与普通临床的 CT 最大的差别在于分辨率极高,可以达到微米级别,并且成像范围小,能够检测骨组织细微结构,为骨质疏松的诊断提供更准确的依据,虽然该方法可以看到三维的图像,但是价格昂贵,临床应用有一定的局限性。

增强 Micro-CT 使用 X 射线不能透过的造影剂,能够发现结构上不连续的弥散性微损伤^[11],常用的造影剂有硫化铅、醋酸铅铀酰、硫酸钡、碘化物等,方法是先取得骨样本,切成薄片后分组进行骨微损伤造模,再体外注射造影剂,最后进行 Micro-CT 扫描。硫化铅与醋酸铅铀酰中的铅和硫化铀酰能够沉积在骨组织中暴露的所有孔隙空间中,包括线性微裂纹和弥散性微损伤中,与骨组织细胞外基质相比 X 射线较难透过微损伤区域,从而达到检测微损伤的目的。硫酸钡被认为是含铅染色的良好替代品,有着

良好的生物相容性,适用于体内造影,分辨率达 $10\ \mu\text{m}$ ^[12]。钡离子和硫酸根离子可在微损伤和脉管系统的空隙中形成沉淀。从结果来看,由于 X 光很难穿透硫酸钡沉积的损伤区域,与正常组织相比损伤区域在 Micro-CT 中的像素强度得到了增强,使得 Micro-CT 成像有了一个更适合的阈强度^[13]。而碘化物有一个能够结合阳离子的位点,因此能与骨组织中的钙离子结合而标记微损伤,经过 Micro-CT 扫描后可以发现微裂纹。

2.6 Micro-MRI(μMRI)

Micro-MRI 是一种非侵入性检查方法,与 CT 相比,MRI 没有电离辐射,而且骨与骨髓本身成像就对比鲜明,这是因为骨髓中含有大量的水和脂肪组织。高分辨率磁共振成像 (high-resolution magnetic resonance imaging, HR MRI) 利用骨髓和骨小梁结构的信号差异进行成像,在骨髓高信号的背景中骨小梁显示为黑色网状结构,其分辨率可直接显示每根骨小梁的结构形态^[14]。其主要特点是小孔径(直径 $< 20\ \text{cm}$)、高分辨力 ($< 100\ \mu\text{m}$)、高场强 ($> 3\text{T}$), 比普通 MRI 提供更多的信息,缺点是成像时间长,灵敏度略低。

3 骨微损伤的形成与修复机制

3.1 骨微损伤的形成

引起骨微损伤的主要原因大致有两种^[15]:一种是过度连续承载造成的疲劳损伤,另一种是各种机械性损伤,如暴力撞击、假体或螺钉的植入等。五种微损伤类型中,目前研究主要集中在线性微裂纹和弥散性微损伤,值得注意的是,弥散性微损伤并不是线性微裂纹形成的前体,在同样负荷加载的骨样本上,它们出现在完全不同的区域^[6],说明它们是完全不同的两种微损伤类型,本文对这两种类型进行阐述。

骨微损伤是如何形成的呢?骨微损伤发生于胶原纤维或更低层次的分子水平上,首先发生胶原纤维与骨细胞接触表面的松解,继而发生两者之间的分离以及胶原纤维的分解。当有足够数量的裂纹形成时,高倍镜下可观察到这些改变,随着这些裂纹的不断积累和融合,经过染色后在低倍镜下就可以看到这些改变^[16]。骨微损伤是一把双刃剑,一方面如果不能得到及时修复,微损伤将会在原有基础上不断传播扩大,同时产生新的微损伤,形成正反馈(即“弱化骨作用”^[12]);另一方面能够分散能量以抵抗脆性骨折的发生^[17](也称作“韧化机制”^[18])。弥

散性微损伤中骨基质可以将损伤限制在有限的区域从而避免了破裂的进一步扩散以及基质的破坏^[12]。

骨微损伤形成后,如果不能得到及时的修复,将会逐渐累积并最终导致骨折,这取决于骨组织修复能力、外界环境的影响以及微裂纹的大小。较小的裂纹能够依赖骨组织自身修复能力进行修复,而当疲劳损伤超过了骨组织自身修复能力之后,这种裂纹将逐渐累积,并最终发展至应力性骨折,即疲劳性骨折;外界环境也在骨折发生过程中起着重要作用,Fyhrie 等^[17]研究指出,移除载荷后人体压缩的椎体松质骨至少可以恢复到原有 94% 的高度,说明显微裂纹可以分散能量从而促进恢复和维持小梁整体的结构;微裂纹的大小也影响着骨折形成过程,O'Brien 等^[19]研究发现,骨单位是防止裂纹延长的屏障,这种屏障作用取决于裂纹到达骨单位时的长度,不超过 $100\ \mu\text{m}$ 的裂纹遇到骨单位周围的黏合线时就会终止延长,而 $100\sim 300\ \mu\text{m}$ 的裂纹在遇到黏合线会沿着其延长并很快终止,大于 $300\ \mu\text{m}$ 的裂纹能够穿过骨单位并从一个哈弗式系统发展到另一个哈弗式系统,最终引起骨折。

3.2 骨微损伤的修复

研究指出骨组织依靠基础多细胞单元 (basic multicellular unit, BMU) 为基础的骨重建修复微损伤,而骨重建是一系列反应过程的总称,包括破骨细胞清除损伤区域形成吸收空腔,成骨细胞合成并分泌骨基质,以及骨基质矿化沉积形成新骨填补吸收空腔。骨重建能够维持体内钙磷代谢的平衡,清除骨内的显微损伤以适应周围力学环境的改变,一些学者认为骨内存在两种类型的骨重建^[20]:即随机性骨重建和靶向骨重建,前者不针对特定的部位,后者针对特定的微损伤发生的部位,即有微损伤和骨细胞形态学改变的部位。通常认为骨主要通过靶向骨重建来修复微损伤,骨细胞感知力学变化和微损伤后,先通过破骨细胞的吸收来清除骨,移除损伤组织,随后成骨细胞移行至吸收部位分泌骨基质矿化成新骨进行修复,这种修复方式可以根据力学需求而变化成骨部位和数量^[21],从而定位清除微损伤。

由于显微结构和组织超微结构的不同,皮质骨和松质骨的修复方式有所不同。Mori 等^[22]指出狗皮质骨上,微损伤的周围总是伴有吸收腔,而 Goff 等^[23]发现松质骨的微损伤远离吸收腔和骨小梁表面,这可能是由于靠近骨端的裂纹先被修复,而远离骨端的裂纹后被修复。

影响骨重建的一些因素可能会增加骨折的风

险, Li 等^[24]研究发现在同样的负荷加载下, 去卵巢组大鼠骨微损伤较对照组明显增多, 说明雌激素缺乏与骨重建、骨微损伤的聚积密切相关, 绝经后骨质疏松性骨折就很可能是雌激素缺乏导致的骨重建加快引起的, Schaffler 等^[25]认为骨重建的加快会加速微损伤的积累, 导致吸收腔的增多, 降低了骨强度, 进一步导致疏松骨的应力和应变增大, 使得微损伤增加。但抑制骨重建也会导致同样的结果, Li 等^[26]使用二磷酸盐(如利塞磷酸盐、阿仑磷酸盐)等抗骨质疏松药物, 发现其在增加骨量的同时也可以抑制骨重建而造成骨微损伤的聚积, 抗骨质疏松药物的使用与非典型股骨骨折的发生有相关性。

那么骨微损伤是如何启动骨重建的呢? 研究指出微损伤可能会导致骨细胞凋亡从而启动了骨重建^[27], 但不同微损伤类型对骨重建的影响不同^[2]: 线性微裂纹通过诱导细胞凋亡启动靶向骨重建, 弥散性微损伤不诱导细胞凋亡而启动随机性骨重建。

关于线性微裂纹诱导细胞凋亡的机制有许多不同观点, Tami 等^[28]认为线性微裂纹破坏了骨细胞之间小管液的运输, Herman 等^[29]指出小管液的破坏会造成细胞缺氧应激从而导致细胞凋亡。此外, Herman 等^[2]还认为与心肌、脑缺血等局灶性损伤机制相类似, 线性微裂纹直接横断了骨细胞导致其坏死并进一步引起临近骨细胞凋亡。有学者认为凋亡细胞附近的骨细胞能够释放核因子 $\kappa\beta$ 受体活化因子配体(receptor activator of nuclear factor kappa β ligand, RANKL), 激活破骨细胞从而启动骨重建^[30], 因此骨细胞凋亡和作为“旁观者”的周围骨细胞释放的破骨细胞激活信号这两者对于靶向性骨重建十分重要^[18]。Taylor 等^[31]发现线性微裂纹及其两端的流体流速高于完好骨骼, 说明流体流动产生的剪切力能够通过改变力学传导性启动骨重建。

而关于弥散性微损伤不导致细胞凋亡的原因尚不明确, Herman 等^[2]认为弥散性微损伤损伤长度短($<1 \mu\text{m}$), 不影响局部小管液运输以及骨细胞代谢应激, 从而不会导致骨细胞凋亡。Seref-Ferlengez 等^[4]建立大鼠尺骨弥散性微损伤模型, 发现弥散性微损伤不影响骨细胞的完整性, 以及随着时间的推移弥散性微损伤不断减少, 证实了其在亚板层骨水平上的自我修复能力。尽管这种自我修复能力的具体机制尚不清楚, 但可以合理的推测弥散性微损伤区域与广泛的骨细胞网络紧密相关, 机体以不同于传统骨重建的方式来处理这种最常见的微损伤类型^[18]。Kerschnitzki 等^[32]发现骨细胞与基质矿物有

着密切关系, 弥散性微损伤区域的骨细胞可能通过调节一些蛋白质的生成, 如牙本质基质酸性磷蛋白-1(dentin matrix acidic phosphoprotein 1, DMP-1), 细胞外基质磷酸化糖蛋白(matrix extracellular phosphoglycoprotein, MEPE), 骨桥蛋白(osteopontin, OPN)等与矿化有关的蛋白质, 使矿物沉积于小裂纹中, 通过快速直接的矿物桥接修复活体骨中的弥散性微损伤^[4]。

3.3 神经肽与骨重建

微损伤形成后, 由于骨骼本身具有功能适应性, 一方面能够通过骨细胞局部网络修复微损伤以应对外界环境的变化, 避免其进一步恶化以及骨折的发生。另一方面, 骨组织中分布广泛的外周神经及其分泌的神经肽也在骨重建过程中发挥着重要的调节作用^[33], 在微损伤形成及修复过程中部分神经肽表达上调, 这些神经肽可能作为微损伤形成后神经性修复反应的重要组成部分, 调节微损伤修复过程中的靶向性骨重建, 影响负荷加载后的修复性新骨形成。研究发现骨折局部 P 物质(substance P, SP)、降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)、神经肽 Y(neuropeptide Y, NPY)阳性纤维数量明显增加^[34], 说明它们与骨重建及骨折愈合关系密切, 虽然目前尚无血管活性肠肽(vasoactive intestinal polypeptide, VIP)阳性纤维与骨折愈合的相关报道, 但 VIP 与 CGRP 免疫反应阳性的神经纤维同样分布于骨膜各层, 研究也证实 VIP 对实验诱导骨关节炎的骨结构具有保护作用^[35], 说明 VIP 可能参与骨重建过程, 下面分别阐述这四种神经肽在骨重建中的可能作用机制。

在骨折愈合过程中, SP 样神经纤维与毛细血管一同出现在新生骨组织的周围, 除了调节局部血流量影响骨折修复外, 其受体 NK-1 也表达于成骨和破骨细胞^[36], 尽管 SP 对成骨细胞作用存在争议, 但大多数研究认为它既能增强成骨细胞功能, 也能够增强破骨细胞功能, 提示在骨折愈合过程中它可能参与调控成骨和破骨细胞功能的平衡^[37], 体外培养条件下 SP 可以提高成骨细胞或破骨细胞内钙离子浓度^[38], 其具体机制有待进一步探讨。此外, SP 可以上调修复细胞内生长因子及其受体 mRNA 的表达而增强修复细胞活性, 促进机体组织愈合。

CGRP 通过与受体结合调节成骨细胞和破骨细胞分化及功能, 进而对骨重建过程产生影响, 其主要作用是: 促进成骨细胞分化增殖, 抑制破骨细胞活性。Sample 等^[39]研究发现大鼠右侧尺骨负荷加载

会引起双侧骨组织中 CGRP 浓度升高,伴有肢体远端双侧未加载长骨的骨形成作用增强,而臂丛神经阻滞能显著降低血清中骨重建标志物抗酒石酸酸性磷酸酶 5b (tartrate-resistant acid phosphatase 5b, TRAP5b) 水平,削弱骨形成作用,证实了 CGRP 对骨形成的促进作用。Villa 等^[40]发现 CGRP 可以明显刺激体外培养的人成骨细胞样细胞的 cAMP 水平,通过 cAMP/PKA 信号途径影响成骨细胞的代谢,而成骨细胞中上调的 cAMP 还可以增加 CGRP 的表达,自分泌作用于成骨细胞,形成正反馈^[41]。Lian 等^[42]利用施加 CGRP 和 IL-1 β 的培养基,对成骨和破骨细胞进行体外培养发现 IL-1 β 可以明显刺激破骨细胞骨吸收,而 CGRP 可剂量依赖性抑制 IL-1 β 介导的骨吸收作用。Cornish 等^[43]通过体外培养破骨细胞,进一步证明 CGRP 可直接与破骨细胞降钙素受体结合,抑制破骨细胞骨吸收活性。

NPY 在外周可作用于成骨细胞 Y1 受体抑制骨形成,引起骨量丢失,降低骨强度。但有研究发现, NPY 可显著促进骨折愈合, Sousa 等^[44]观察到 NPY Y1R 基因种系敲除鼠出现了骨折愈合延迟现象,认为可能是由于 Y1R 基因敲除后巨噬细胞功能受到影响,使得 TNF- α 的产生降低,进一步导致骨折愈合过程中炎症反应期的推迟。Long 等^[34]认为在炎症反应期 NPY 阳性纤维的增加可能会促进细胞增殖以及血管生成,从而促进骨痂形成。

Sample 等^[45]研究发现大鼠右侧尺骨负荷加载 10 天后双侧骨组织中 VIP 浓度升高,而与 CGRP 作用相似, VIP 也能够促进骨形成,抑制骨吸收。VIP 可通过诱导成骨细胞中 cAMP 合成增加使碱性磷酸酶 mRNA 表达上调和活性升高,增强成骨细胞活性。此外, VIP 不仅可以通过抑制甲状旁腺激素、维生素 D3 的作用降低成骨细胞 RANKL 和破骨细胞核因子 $\kappa\beta$ 受体活化因子 (receptor activator of nuclear factor kappa β , RANK) 的表达,还可以通过增加成骨细胞表达骨保护蛋白 (osteoprotegerin, OPG), 抑制破骨细胞分化增殖以及活性,抑制骨吸收^[46]。

4 总结和展望

从 1960 年 Frost 首先提出骨微损伤的概念到现在这半个世纪以来,骨微损伤的检测从简单的组织学染色不断发展至运用 μ CT、 μ MRI 检测等方法,其分辨能力、特异性和准确程度都有了极大的提高,无创、准确和经济的体外检查是今后发展的方向,使早期发现骨显微结构的改变成为可能,从而进行干预

降低病人骨折风险。在骨微损伤五种类型中,线性微裂纹和弥散性微损伤是最常见也是研究最多的类型,但两者的修复方式完全不同,具体机制仍处于研究探索中。随着技术手段的不断发展,骨微损伤的检测会更加简便和准确,骨微损伤在机械与生物学之间的复杂作用也将得到更深入的研究,这对于骨质疏松的早期诊断、治疗以及预防骨质疏松性骨折的发生都具有重要意义。

【参 考 文 献】

- [1] Frost H. Presence of microscopic cracks in vivo in bone [J]. Henry Ford Hosp Med Bull, 1960, 8(2): 35.
- [2] Herman BC, Cardoso L, Majeska RJ, et al. Activation of bone remodeling after fatigue: differential response to linear microcracks and diffuse damage [J]. Bone, 2010, 47(4): 766-772.
- [3] Vashishth D, Koontz J, Qiu SJ, et al. In vivo diffuse damage in human vertebral trabecular bone [J]. Bone, 2000, 26(2): 147-152.
- [4] Seref-Ferlengez Z, Basta-Pljakic J, Kennedy OD, et al. Structural and mechanical repair of diffuse damage in cortical bone in vivo [J]. J Bone Miner Res, 2014, 29(12): 2537-2544.
- [5] Follet H, Farlay D, Bala Y, et al. Determinants of microdamage in elderly human vertebral trabecular bone [J]. PLoS One, 2013, 8(2): e55232.
- [6] Boyce TM, Fyhrie DP, Glotkowski MC, et al. Damage type and strain mode associations in human compact bone bending fatigue [J]. J Orthop Res, 1998, 16(3): 322-329.
- [7] Li ZC, Dai LY, Jiang LS, et al. Difference in subchondral cancellous bone between postmenopausal women with hip osteoarthritis and osteoporotic fracture: implication for fatigue microdamage, bone microarchitecture, and biomechanical properties [J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(12): 3955-3962.
- [8] Lee TC, Mohsin S, Taylor D, et al. Detecting microdamage in bone [J]. J Anat, 2003, 203(2): 161-172.
- [9] Donahue SW, Galley SA. Microdamage in bone: implications for fracture, repair, remodeling, and adaptation [J]. Crit Rev Biomed Eng, 2006, 34(3): 215-271.
- [10] Hassenkam T, Fantner GE, Cutroni JA, et al. High-resolution AFM imaging of intact and fractured trabecular bone [J]. Bone, 2004, 35(1): 4-10.
- [11] Tang SY, Vashishth D. A non-invasive in vitro technique for the three-dimensional quantification of microdamage in trabecular bone [J]. Bone, 2007, 40(5): 1259-1264.
- [12] Poundarik AA, Vashishth D. Multiscale imaging of bone microdamage [J]. Connect Tissue Res, 2015, 56(2): 87-98.
- [13] Leng H, Wang X, Ross RD, et al. Micro-computed tomography of fatigue microdamage in cortical bone using a barium sulfate contrast agent [J]. J Mech Behav Biomed Mater, 2008, 1(1): 68-75.
- [14] Liu XS, Zhang XH, Rajapakse CS, et al. Accuracy of high-resolution in vivo micro magnetic resonance imaging for

- measurements of microstructural and mechanical properties of human distal tibial bone[J]. *J Bone Miner Res*, 2010, 25(9): 2039-2050.
- [15] Huja SS, Katona TR, Burr DB, et al. Microdamage adjacent to endosseous implants[J]. *Bone*, 1999, 25(2): 217-222.
- [16] Burr DB, Forwood MR, Fyhrie DP, et al. Bone microdamage and skeletal fragility in osteoporotic and stress fractures[J]. *J Bone Miner Res*, 1997, 12(1): 6-15.
- [17] Fyhrie DP, Schaffler MB. Failure mechanisms in human vertebral cancellous bone[J]. *Bone*, 1994, 15(1): 105-109.
- [18] Seref-Ferlengez Z, Kennedy OD, Schaffler MB. Bone microdamage, remodeling and bone fragility: how much damage is too much damage? [J]. *Bonekey Rep*, 2015, 4: 644.
- [19] O'Brien FJ, Taylor D, Clive Lee T. The effect of bone microstructure on the initiation and growth of microcracks[J]. *J Orthop Res*, 2005, 23(2): 475-480.
- [20] Burr DB. Targeted and nontargeted remodeling [J]. *Bone*, 2002, 30(1): 2-4.
- [21] Taylor D, Hazenberg JG, Lee TC. Living with cracks: damage and repair in human bone[J]. *Nat Mater*, 2007, 6(4): 263-268.
- [22] Mori S, Burr DB. Increased intracortical remodeling following fatigue damage[J]. *Bone*, 1993, 14(2): 103-109.
- [23] Goff MG, Lambers FM, Nguyen TM, et al. Fatigue-induced microdamage in cancellous bone occurs distant from resorption cavities and trabecular surfaces[J]. *Bone*, 2015, 79: 8-14.
- [24] Li ZC, Jiang SD, Yan J, et al. Small-animal PET/CT assessment of bone microdamage in ovariectomized rats [J]. *J Nucl Med*, 2011, 52(5): 769-775.
- [25] Schaffler MB, Radin EL, Burr DB. Long-term fatigue behavior of compact bone at low strain magnitude and rate[J]. *Bone*, 1990, 11(5): 321-326.
- [26] Li J, Mashiba T, Burr DB. Bisphosphonate treatment suppresses not only stochastic remodeling but also the targeted repair of microdamage[J]. *Calcif Tissue Int*, 2001, 69(5): 281-286.
- [27] Cardoso L, Herman BC, Verborgt O, et al. Osteocyte Apoptosis Controls Activation of Intracortical Resorption in Response to Bone Fatigue[J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2009, 24(4): 597-605.
- [28] Tami AE, Nasser P, Verborgt O, et al. The role of interstitial fluid flow in the remodeling response to fatigue loading[J]. *J Bone Miner Res*, 2002, 17(11): 2030-2037.
- [29] Herman B, Laudier D, Cardoso L, et al. Acute osteocyte response to fatigue microdamage: production of HIF-1 α and VEGF-A[J]. *Orthop Trans*, 2007, 32: 118.
- [30] Kennedy OD, Herman BC, Laudier DM, et al. Activation of resorption in fatigue-loaded bone involves both apoptosis and active pro-osteoclastogenic signaling by distinct osteocyte populations[J]. *Bone*, 2012, 50(5): 1115-1122.
- [31] Taylor D, Hazenberg JG, Lee TC. The cellular transducer in damage-stimulated bone remodelling: a theoretical investigation using fracture mechanics[J]. *J Theor Biol*, 2003, 225(1): 65-75.
- [32] Kerschnitzki M, Kollmannsberger P, Burghammer M, et al. Architecture of the osteocyte network correlates with bone material quality[J]. *J Bone Miner Res*, 2013, 28(8): 1837-1845.
- [33] 石少辉, 张智海, 吴国平, 等. 神经调控与骨重建[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2015, 21(12): 1517-1521.
- Shi SH, Zhang ZH, Wu GP, et al. Neural regulation and bone reconstruction[J]. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 2015, 21(12): 1517-1521. (in Chinese)
- [34] Long H, Ahmed M, Ackermann P, et al. Neuropeptide Y innervation during fracture healing and remodeling. A study of angulated tibial fractures in the rat[J]. *Acta Orthop*, 2010, 81(5): 639-646.
- [35] Delgado M, Abad C, Martinez C, et al. Vasoactive intestinal peptide prevents experimental arthritis by downregulating both autoimmune and inflammatory components of the disease[J]. *Nat Med*, 2001, 7(5): 563-568.
- [36] Goto T, Yamaza T, Kido MA, et al. Light- and electron-microscopic study of the distribution of axons containing substance P and the localization of neurokinin-1 receptor in bone[J]. *Cell Tissue Res*, 1998, 293(1): 87-93.
- [37] Ding WG, Zhang ZM, Zhang YH, et al. Changes of substance P during fracture healing in ovariectomized mice[J]. *Regul Pept*, 2010, 159(1-3): 28-34.
- [38] Mori T, Ogata T, Okumura H, et al. Substance P regulates the function of rabbit cultured osteoclast; increase of intracellular free calcium concentration and enhancement of bone resorption[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 262(2): 418-422.
- [39] Sample SJ, Collins RJ, Wilson AP, et al. Systemic effects of ulna loading in male rats during functional adaptation [J]. *J Bone Miner Res*, 2010, 25(9): 2016-2028.
- [40] Villa I, Mrak E, Rubinacci A, et al. CGRP inhibits osteoprotegerin production in human osteoblast-like cells via cAMP/PKA-dependent pathway[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 291(3): C529-537.
- [41] Imai S, Matsusue Y. Neuronal regulation of bone metabolism and anabolism; Calcitonin gene-related peptide-, substance P-, and tyrosine hydroxylase-containing nerves and the bone [J]. *Microscopy Research and Technique*, 2002, 58(2): 61-69.
- [42] Lian K, Du J, Rao Z, et al. The experimental study on the effect calcitonin gene-related peptide on bone resorption mediated by interleukin-1[J]. *J Tongji Med Univ*, 2001, 21(4): 304-307.
- [43] Cornish J, Callon KE, Bava U, et al. Effects of calcitonin, amylin, and calcitonin gene-related peptide on osteoclast development[J]. *Bone*, 2001, 29(2): 162-168.
- [44] Sousa DM, McDonald MM, Mikulec K, et al. Neuropeptide Y modulates fracture healing through Y1 receptor signaling[J]. *J Orthop Res*, 2013, 31(10): 1570-1578.
- [45] Sample SJ, Behan M, Smith L, et al. Functional adaptation to loading of a single bone is neuronally regulated and involves multiple bones[J]. *J Bone Miner Res*, 2008, 23(9): 1372-1381.
- [46] Lundberg P, Lerner UH. Expression and regulatory role of receptors for vasoactive intestinal peptide in bone cells [J]. *Microscopy Research and Technique*, 2002, 58(2): 98-103.

(收稿日期: 2016-10-06, 修回日期: 2016-11-12)