

文章编号: 1004-7220(2014)03-0285-07

· 综述 ·

地基微重力效应模拟影响骨髓间充质干细胞生物学行为及其调控机理研究进展

张晨^{1,2}, 吕东媛², 孙树津², 宋关斌¹, 龙勉²

(1. 重庆大学 生物工程学院, 重庆 400044; 2. 中国科学院 力学研究所, 微重力重点实验/生物力学与生物工程中心, 北京 100190)

摘要: 随着空间生命科学的发展,地基模拟微重力效应的研究显得越来越重要,以弥补空间飞行机会受限的不足。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)在地基能够向各胚层分化,但其在空间微重力条件下的生物学行为以及调控机制仍不清楚。地基模拟微重力效应会影响 BMSCs 的生长、凋亡和细胞表面分子的表达,导致细胞骨架重组,改变 BMSCs 在不同分化方向上的潜能。本文就地基微重力效应模拟如何影响 BMSCs 生物学行为及其相关调控机理进行综述,以期深入认识(微)重力影响 BMSCs 的力学-生物学耦合机制,为与空间飞行相关的病理生理改变提供理论参考。

关键词: 微重力; 骨髓间充质干细胞; 细胞生长; 细胞骨架; 细胞分化

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

Impacts of ground-based microgravity simulation on biological responses of bone marrow mesenchymal stem cells and its underlying mechanisms: A mini-review

ZHANG Chen^{1,2}, LÜ Dong-yuan², SUN Shu-jin², SONG Guan-bin¹, LONG Mian²

(1. Bioengineering College, Chongqing University, Chongqing 400044, China; 2. Key Laboratory of Microgravity, Center of Biomechanics and Bioengineering, Institute of Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China)

Abstract: With the development of space life science, researches on ground-based microgravity simulation become more and more important for spaceflight to complement their limited missions. It is well known that bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) are pluripotent, self-renewing cells with multi-lineage differentiation capacity on the ground, but their responses under microgravity and the underlying regulatory mechanisms are poorly understood. Ground-based microgravity simulation might affect cell proliferation, apoptosis and expression of surface molecules, and induce cytoskeletal reorganization, as well as alter the differentiation potential of BMSCs. In this review, how ground-based microgravity simulation mediates BMSCs' responses and its involved mechanisms are summarized to further understand the mechano-biological coupling in such process and provide theoretical references for space flight-induced pathophysiological alterations.

Key words: Microgravity; Bone mesenchymal stem cells (BMSCs); Cell proliferation; Cytoskeleton; Cell differentiation

收稿日期: 2013-03-19; 修回日期: 2013-03-29

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973)项目(2011CB710904), 中科院先导专项(XDA04020219), 重庆市科委自然科学基金项目(2010BB5236)。

通信作者: 宋关斌, 教授, Tel: (023)65102507, E-mail: song@cqu.edu.cn; 龙勉, 研究员, Tel: (010)82544131, E-mail: mlong@imech.ac.cn。

太空中的复杂环境对宇航员的生理健康有着重大影响^[1-4],最主要的因素之一是重力消失所导致的效应。太空飞行中的微重力环境会导致宇航员出现骨质流失、肌肉萎缩、免疫功能抑制等系列生理适应性改变和/或病理变化,并且这些变化在一定程度上均与其功能细胞的活性降低及其前体细胞/祖细胞的分化能力受抑制相关^[5-7],故易于分离培养、且具有多向分化潜能的骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)^[8]成为空间生命科学研究的焦点之一。已有空间飞行实验证明,微重力环境不仅对干细胞生长、分化能力有显著影响,同时也会使干细胞的基因表达发生显著变化^[5, 9-10]。

尽管空间实验技术取得了很大发展^[11-12],但由于空间实验机会少、风险大、耗资高,人们常在地面通过各种装置和方法模拟空间(微)重力效应^[13-14],针对不同干细胞都有一定的发现^[15-18],并着重对BMSCs的生物学响应进行大量研究。然而,由于实验方法、条件的限制和不统一,许多实验结果比较离散,相关调控机理研究也难以获得统一认识。本文总结了有关地基微重力效应模拟对BMSCs生物学行为影响的研究成果,并对其机理研究进行分析,旨在促进对干细胞响应(微)重力环境影响的深入认识。

1 地基生物学实验中模拟微重力效应的主要装置和方法

目前地基模拟微重力效应的方法分为“消除加速运动”和“消除重量感知”两大类。前者主要采用旋转式效应模拟装置,包括回转器和旋转壁式生物反应器、磁悬浮装置等,是目前空间生命科学研究中地基微重力效应模拟的主要装置;后者包括落塔(落管)、自由下落装置、钟摆等,需要专门的装置,且单次实验微重力时间大多为秒级,只能开展极其有限的微重力效应模拟的生物学研究,故不在本文中讨论。

1.1 回转器(clinostat)

最早出现在19世纪末,主要用于“迷惑”植物向重性,之后被逐步推广用于微生物、动物领域。回转器可通过密闭、无气液界面、绕单轴的恒速旋转实现回转器内悬浮细胞或细胞载体的刚体运动,从而达到消除加速运动的目的。由于装置密闭,一般只能进行不超过72 h的生物学实验。

1.2 旋转壁式生物反应器(rotating wall vessel bioreactor, RWV)

最初目的是航天飞机发射前48 h在机舱内模拟微重力以及在升空应激中保护细胞,目前已广泛用于动物细胞-组织对重力的感知、传导和响应研究,其实现微重力效应的基本原理也是使培养器内的细胞(载体)实现刚体运动、维持功能性静止。针对动物细胞长期培养时营养供应和物质交换不足的弱点,人们还发展了旋转灌流式生物反应器进行在线灌流,实现了营养物质和氧气的在线运输,可开展长期微重力效应模拟实验。

1.3 随机指向装置(random positioning machine, PRM)或三维回转器(3D-clinostat)

在二维回转器的基础上,通过绕正交双轴的旋转,使得生物学对象无法在所设定的时间窗口内感知重力矢量的主方向,从而达到“迷惑”重力、模拟失重的目的。

1.4 强磁悬浮(large gradient high magnetic field, LGHMF)

通过对生物学对象施加与重力方向相反的电磁力来平衡重力的作用和效应,使得细胞(载体)或组织悬浮,从而实现功能性静止和微重力效应模拟。

2 地基模拟微重力效应下BMSCs生物学响应

BMSCs作为一种具有多向分化潜能的细胞,认识其在地基模拟微重力效应装置中的生物学行为,不仅有助于阐明(微)重力影响干细胞生物学表型的机理,而且还是遴选相关空间飞行实验项目、验证空间飞行装置的基础和前提。

2.1 地基模拟微重力效应对BMSCs增殖、周期、凋亡的影响

2.1.1 二维回转器 模拟微重力效应对BMSCs增殖的影响非常明显。通过每24 h对回转器中培养的BMSCs进行检测,人们发现不论是短期(3~4 d)^[19-20]还是长期(7~10 d)^[21-23]培养,回转器中的BMSCs相对于对照组细胞,其增殖均受到不同程度抑制。即使加入不同的生长因子,其增殖速度也难以有显著提升,表明化学因素无法抵消微重力因素对干细胞增殖的影响^[20]。细胞凋亡检测结果显示,回转器中BMSCs的凋亡变化并不明显,作为凋亡标

记物的 annexin V 表达略微升高,但无显著性差异^[24-25]。同时,有关回转器中 BMSCs 周期的研究发现,在回转培养 4 d 后,G0/G1 期的细胞数量显著上升^[20]。

2.1.2 旋转壁式生物反应器、随机指向装置(三维回转器)和强磁悬浮装置 有关这 3 种模拟装置对 BMSCs 增殖和凋亡影响的研究较少,且数据较为离散,很难得到统一的结论。在 RWV 中,采用 MTT 法^[26]或者直接对细胞计数^[27-28],发现 BMSCs 增殖能力有所上调;加入某些生长因子(如 TGF- β 1)会显著加强这种上调作用,进一步促进细胞增殖^[27];然而,也有 BMSCs 增殖能力并不变化的报道^[29]。利用三维回转器,同样是经过 7 d 培养,人们既得到 BMSCs 的数量增加了 13 倍、超过对照组 200% 的结论^[30],也观察到细胞活性略微下降的现象^[31],而后者恰恰与细胞在强磁悬浮中培养 12 h 后活性下降并同时促使细胞凋亡的现象相吻合^[32-33]。

值得指出的是,除去生物学样品来源和实验过程存在的可能差异外,导致上述 BMSCs 生物学行为多样性甚至离散化的最重要因素之一是地基模拟微重力效应的原理、方法、装置及其运控模式(如转速、时间等)的差异。

2.2 地基模拟微重力效应对 BMSCs 分化的影响

模拟微重力效应如何影响 BMSCs 分化能力是人们关注的重点^[34],其中大多聚焦于其向成骨、脂肪方向的分化能力是否发生变化。

2.2.1 对 BMSCs 骨向分化能力的影响 地基模拟微重力效应会抑制 BMSCs 成骨分化的能力。通过对碱性磷酸酶(ALP)的检测,人们发现不论在蛋白水平还是 mRNA 水平,ALP 表达较对照组均有不同程度的下调,说明细胞成骨分化能力受到一定的抑制^[27,33,35-36]。成骨细胞相关基因或蛋白表达的下降则进一步证明了该结论,如在回转器中 I 型胶原 A-1 亚基(Col I A1)、core-binding factor 1(Cbfl)、BMP-2^[21-22],在 RWV 中 Col I A1、osteonectin(ON)、osteocalcin(OC)、Cbfl/Runx2^[28,36]均出现不同程度的下调,在强磁悬浮中 Runx2 的 mRNA 表达也受到显著抑制^[33]。而在 RWV 中诱导成骨分化后,细胞矿化程度较对照组有很大的差距^[31]。上述结果说明,地基模拟微重力效应会抑制 BMSCs 的成骨分化能力。

另一方面,模拟微重力效应下 BMSCs 骨向分化

也存在争议。当未加入诱导培养基时,在 RPM 中的 BMSCs 维持其未分化状态^[30],尽管此时软骨细胞标志物 II 型胶原的 mRNA 表达实际上是受到抑制的,推测是由于模拟微重力效应自身对 BMSCs 分化的影响还无法在现象学上表现出来。但是不容忽视的是,也有研究发现模拟微重力效应下 BMSCs 的 ALP 表达有显著上升^[28],说明 BMSCs 更容易向成骨分化。因此,模拟微重力效应下 BMSCs 骨向分化模式受何种因素(力学、化学、生物学等)调控,有待进一步验证。

2.2.2 对 BMSCs 脂肪分化能力的影响 脂滴数量是判断干细胞脂肪向分化的重要标志。在 RWV 中发现,BMSCs 在诱导后与对照组相比脂滴数量显著增加^[36,38],说明其促进了向脂肪细胞分化。研究发现,在回转器、RWV 和强磁场中,脂肪分化的另一标志物 PPAR γ 2 的 mRNA 表达均有显著上调^[21,28,35-37];同时,脂肪分化相关的其他基因,如 leptin、adipsin、glut 4 也都有不同程度的上调^[21,33,36-37]。以上研究表明,地基模拟微重力效应在很大程度上提高了 BMSCs 向脂肪方向分化的能力。

2.2.3 对 BMSCs 其他方向分化能力的影响 除了对成骨和脂肪方向分化的研究外,人们还发现在相应诱导培养基协同作用下,地基模拟微重力效应还能诱导 BMSCs 分别向软骨细胞^[39]、内皮样细胞^[24]、神经细胞^[25]和髓核样细胞^[27]等方向分化,但是目前这些研究报道较少,还处于起步阶段。

2.3 地基模拟微重力效应对 BMSCs 其他生物学行为的影响

BMSC 对于地基模拟微重力效应的生物学响应,除了上面提到增殖和分化外,研究还发现 BMSCs 的许多表面分子表达也发生了变化。有趣的是,在回转器中第 3 代 BMSCs 细胞表面抗原 CD45 和 CD54 均发生了上调,而采用第 6 代 BMSCs 时,其 CD54、CD90 和 CD106 的表达却发生了下调^[19]。这些分子与细胞黏附、迁移行为相关,有可能是相对老化的 BMSCs 对这种力学调控更加敏感。此外,RPM 不仅会影响 CD44/CD29 或者 CD90/CD29 双阳性的 BMSCs 比例^[30],而且还调控细胞的分泌、诱导 IL-8 上调和 IL-6 下调^[40]。同样地,此类研究目前还很少,数据离散,与微重力效应有何关联难以以下结论,还需要更多的探索。

3 地基模拟微重力效应下 BMSCs 的重力信号转导

3.1 细胞骨架重组

细胞骨架是细胞十分重要的力学敏感单元。微丝和微管是细胞骨架的主要组成部分,那么微丝和微管能否对模拟微重力效应做出应答?大量研究表明,不论是在回转器^[21-21,35]、RWV^[38]、还是 RPM^[24,31]和强磁悬浮^[33]中,BMSCs 微丝的表达均会出现不同程度的削弱和解聚,微管也被去组装^[33],细胞骨架相关基因表达在短时就会发生改变^[41],同时细胞形态出现萎缩,由梭形向四方形或圆形变化^[24,32,35]。由于细胞骨架结构的破坏,BMSCs 在模拟微重力效应下的黏附能力也随之下降,在 RPM 实验中就发现了细胞边缘从基底上脱落的现象,细胞周边的黏着斑也随之消失而聚集到细胞核周围^[42]。BMSCs 细胞骨架对于模拟微重力效应的响应比较迅速,在 2~3 h 就能观察到骨架紊乱,微丝蛋白的表达有显著性差异^[35,38]。同时,这种细胞骨架的重组在模拟微重力效应下,经过一定时间可以恢复,尽管不同实验中其恢复时间有较大的差距(24 h~10 d)^[29,42]。上述结果表明,BMSCs 对该类力学刺激的快速响应可能是适应性反应,即细胞在适应这个环境后能够做出相应的应激调整。

3.2 分子信号转导

除细胞骨架外,许多信号分子参与了(微)重力信号在干细胞内的转导。模拟微重力效应下 BMSCs 信号转导途径的报道还不是很多,其中力敏感信号 RhoA 是人们关注的重点之一。已有研究发现,模拟微重力效应会导致 BMSCs 中 RhoA 表达显著下调^[24,37-38],从而影响下游 ERK 信号的表达。采用病毒转录方法提高 BMSCs 的 RhoA 表达后,不仅细胞骨架恢复到对照组水平,而且 ALP、Col I 等成骨细胞标志物的 mRNA 水平也有一定上调^[38]。

除 RhoA 等感受细胞骨架改变的信号分子外,人们还聚焦于涉及 BMSCs 分化的信号分子上。研究发现,BMSCs 向成骨分化被抑制的直接原因是在模拟微重力效应下磷酸化的 Runx2 蛋白水平或者 Runx2 的 mRNA 水平被严重削弱^[28,33,36-37],而 Runx2 的激活则是骨细胞分化生成不可或缺的重要步骤^[43-44]。此外,在已知的 ERK/MAKP 信号通路上,

也检测到 p-FAK、Ras、p-ERK1/2 水平的下调^[21,36,45],证明 FAK-ERK-Runx2 信号通路是模拟微重力效应下抑制 BMSCs 骨向分化的重要信号转导途径。作为 BMSCs 向脂肪分化的重要标志,在模拟微重力效应下 PPAR γ 2 的 mRNA 水平显著上升^[21,33,36-37],同时,它的上游信号 p-38 的磷酸化水平上调^[28,36];尽管有研究证明,PPAR γ 2 水平还受到其他信号分子调控^[36],但不可否认的是 p-38/MAPK 信号通路在模拟微重力效应下促进 BMSCs 向脂肪分化中起很大的作用。

4 地基模拟微重力效应下 BMSCs 响应的生理实验验证

除了大量细胞实验外,还有一些地基模拟微重力效应下的生理实验与其相互验证。将大鼠尾吊 28 d 之后取出 BMSCs 进行诱导发现,与正常饲养大鼠的 BMSCs 相比,细胞向成骨方向分化的能力被抑制,而向脂肪分化则有进一步提升^[46],这与上述细胞实验结果十分吻合。将去除晶状体的蝶螈分别放入回转器和探空火箭,发现晶状体重建和虹膜细胞生长速度并没有明显差别,而且与地面对照组相比有显著性差异^[47],从而在一定程度上证明了地基模拟微重力效应的可靠性。

也有研究者将在模拟微重力效应下培养或诱导后的 BMSCs 注入大鼠头骨^[28]和小鼠软骨^[30]损伤处,发现与正常培养或诱导的细胞相比,诱导刺激后的 BMSCs 能在损伤部位更快更好地形成骨和软骨组织。虽然这些现象很难与模拟微重力效应抑制 BMSCs 向成骨分化的结论相吻合,但是还是能给人们带来许多相关的思考。

5 总结与展望

地基模拟微重力效应对 BMSCs 生物学行为有十分重大的影响,它抑制 BMSCs 向成骨分化,促进其向脂肪分化,并对其他方向的分化产生影响,但这种影响应该是力学(模拟微重力效应)与生物化学(定向诱导)的耦合作用。同时,模拟微重力效应下 BMSCs 的细胞骨架被破坏,导致细胞萎缩、变形以及黏着斑消失和分布改变,也会改变细胞表面分子的表达和细胞因子等的分泌等。

尤其值得注意的是,地基模拟微重力效应所获

得的生物学数据同空间情形一样,存在较大差异乃至相反结果。例如,地基模拟微重力效应对 BMSCs 增殖的调控并没有统一结论,在回转器中细胞增殖在大部分实验中被抑制,而在 RWV 中以促进细胞增殖为主,而且其抑制或促进程度在不同研究中也较大差别。究其原因,主要在于对 BMSCs 响应(微)重力的力学-化学-生物学规律的认识不够清楚。因此,未来开展地基模拟微重力效应下 BMSCs (乃至其他细胞)生物学研究,需重点关注:(1)不同模拟装置的工作原理有何异同、所能模拟的微重力效应或水平是否有差别;(2)实现微重力效应模拟的物理/力学条件(如 RWV 的在线灌流和强磁悬浮的磁场分布)对细胞是否产生附加影响以及如何孤立这种附加影响;(3)实验条件(如承载 BMSCs 贴壁的载体表面性质、力学强度、拓扑结构等差异)和检测方法(如测量细胞增殖的 MTT 法与细胞计数法间的异同)是否与前述物理/力学条件耦合,如何最小化这种影响。

BMSCs 响应的力学-化学-生物学规律不仅体现在装置、方法、控制等工程化方面,还表现在其本源的生物学感知、传导和应答方面。通常,力学刺激是通过胞外基质/整合素/细胞骨架通路,将力学信号转化为生物信号并传入细胞引起细胞响应。而重力作为一个体积力,目前尚未找到感受其变化的特异信号分子或重力受体(至少在动物细胞中),只能从“结果”或者“终点”进行反推。例如,人们目前找到了涉及模拟微重力效应影响 BMSCs 分化的两条信号通路,ERK/MAPK 和 p-38/MAPK,但是对(微)重力信号在细胞中的转导途径研究还远远不够。

随着空间生命科学的迅速发展,地基模拟微重力效应研究变得越来越重要,而 BMSCs 作为未来应用前景十分广阔的“明星”细胞一直备受关注。近年来人们在该领域的研究已取得长足进步,但许多工作尚需探索:(1)在实验装置层面,期望有更好的模拟微重力效应平台提供规范、可控的实验条件;(2)在 BMSCs 生物学行为及调控机理层面,期待能够逐步阐明 BMSCs 感受(微)重力效应的机理,找到更多、更特异的信号分子,最终形成完整的力学-化学-生物学信号调控网络。相信随着生物力学原理的应用、生物工程技术的发展,(干)细胞感受微重力效应的生物力学机制将被逐步解开,从而促进空

间生命科学的发展。

参考文献:

- [1] Buckey JC Jr. Preparing for Mars: The physiologic and medical challenges [J]. *Eur J Med Res*, 1999, 4(9): 353-356.
- [2] Williams DR. Bioastronautics: Optimizing human performance through research and medical innovations [J]. *Nutrition*, 2002, 18(10): 794-796.
- [3] Clément G, Slenzka K. Fundamentals of space biology: Research on cells, animals and plants in space [M]. New York: Springer Press, 2006: 376.
- [4] Long M, Sun SJ, Huo B, et al. Biomechanics on cell responses to microgravity [M]// Hu WR. *Advances in Microgravity Sciences*. USA: Transworld Research Network Press, 2010: 215-233.
- [5] Davis TA, Wiesmann W, Kidwell W, et al. Effect of spaceflight on human stem cell hematopoiesis: Suppression of erythropoiesis and myelopoiesis [J]. *J Leukoc Biol*, 1996, 60(1): 69-76.
- [6] Ichiki AT, Gibson LA, Jago TL, et al. Effects of spaceflight on rat peripheral blood leukocytes and bone marrow progenitor cells [J]. *J Leukoc Biol*, 1996, 60(1): 37-43.
- [7] Plett PA, Abonour R, Frankovitz SM, et al. Impact of modeled microgravity on migration, differentiation, and cell cycle control of primitive human hematopoietic progenitor cells [J]. *Exp Hematol*, 2004, 32(8): 773-781.
- [8] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells [J]. *Science*, 1999, 284(5411): 143-147.
- [9] Monticone M, Liu Y, Pujic N, et al. Activation of nervous system development genes in bone marrow derived mesenchymal stem cells following spaceflight exposure [J]. *J Cell Biochem*, 2010, 111(2): 442-452.
- [10] Talbot NC, Caperna TJ, Blomberg LA. The effects of space flight and microgravity on the growth and differentiation of PICM-19 pig liver stem cells [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2010, 46(6): 502-515.
- [11] Sun SJ, Gao YX, Shu NJ, et al. A novel counter sheet-flow sandwich cell culture system to unravel cellular responses in space [J]. *Microgravity Sci Tech*, 2008, 20(2): 115-120.
- [12] Hu WR, Long M, Kang Q, et al. Space experimental studies of microgravity fluid science in China [J]. *Chin Sci Bull*, 2009, 54(22): 4035-4048.
- [13] 龙勉, 孙树津, 霍波. 空间生物技术[M]//胡文瑞. 微重力科学导论. 北京: 科学出版社, 2010: 323-363.

- [14] Li H, Chen J, Zhang Y, *et al.* Effects of oriented substrates on cell morphology, the cell cycle, and the cytoskeleton in Ros 17/2.8 cells [J]. *Sci China Ser C*, 2010, 53(9): 1085-1091.
- [15] Wang YL, An LL, Jiang YD, *et al.* Effects of simulated microgravity on embryonic stem cells [J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(12): e29214.
- [16] Majumder S, Siamwala JH, Srinivasan S, *et al.* Simulated microgravity promoted differentiation of bipotential murine oval liver stem cells by modulating BMP4/Notch1 signaling [J]. *J Cell Biochem*, 2011, 112(7): 1898-1908.
- [17] Puca A, Russo G, Giordano A. Properties of mechanotransduction via simulated microgravity and its effects on intracellular trafficking of VEGFRs [J]. *Oncotarget*, 2012, 3(4): 426-434.
- [18] 李彦, 李石, 牛忠英, 等. 重力环境下 Smads 信号通路对人牙周膜干细胞成骨向分化的影响 [J]. *上海口腔医学*, 2012, 21(3): 246-250.
- [19] Gershovich JG, Buravkova LB. Morphofunctional status and osteogenic differentiation potential of human mesenchymal stromal precursor cells during in vitro modeling of microgravity effects [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2007, 144(4): 608-613.
- [20] Dai ZQ, Wang R, Ling SK, *et al.* Simulated microgravity inhibits the proliferation and osteogenesis of rat bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Cell Prolif*, 2007, 40(5): 671-684.
- [21] Huang Y, Dai ZQ, Ling SK, *et al.* Gravity, a regulation factor in the differentiation of rat bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *J Biomed Sci*, 2009, 16: 87.
- [22] Sun LW, Gan B, Fan YB, *et al.* Simulated microgravity alters multipotential differentiation of rat mesenchymal stem cells in association with reduced telomerase activity [J]. *Acta Astronaut*, 2008, 63(7-10): 968-973.
- [23] 倪明, 谢慧琪, 陈俊伟, 等. 利用旋转式生物反应器快速扩增骨髓间充质干细胞 [J]. *医用生物力学*, 2009, 24(1): 28-33.
- Ni M, Xie HQ, Chen JW, *et al.* Rapid expansion of bone marrow derived mesenchymal stem cells (MSCs) using rotary bioreactor [J]. *J Med Biomech*, 2009, 24(1): 28-33.
- [24] Zhang XF, Nan YY, Wang H, *et al.* Model microgravity enhances endothelium differentiation of mesenchymal stem cells [J]. *Naturwissenschaften*, 2013, 100(2): 125-133.
- [25] Chen J, Liu RR, Yang Y, *et al.* The simulated microgravity enhances the differentiation of mesenchymal stem cells into neurons [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 505(2): 171-175.
- [26] Sheyn D, Pelled G, Netanel D, *et al.* The effect of simulated microgravity on human mesenchymal stem cells cultured in an osteogenic differentiation system: A bioinformatics study [J]. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16(11): 3403-3412.
- [27] Luo W, Xiong W, Lv YW, *et al.* Differentiation of mesenchymal stem cells towards a nucleus pulposus-like phenotype utilizing simulated microgravity in vitro [J]. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2011, 31(2): 199-203.
- [28] Jin F, Zhang YJ, Xuan K, *et al.* Establishment of three-dimensional tissue-engineered bone constructs under microgravity-simulated conditions [J]. *Artif Organs*, 2010, 34(2): 118-125.
- [29] Zayzafoon M, Gathings WE, McDonald JM. Modeled microgravity inhibits osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells and increases adipogenesis [J]. *Endocrinology*, 2004, 145(5): 2421-2432.
- [30] Yuge L, Kajume T, Tahara H, *et al.* Microgravity potentiates stem cell proliferation while sustaining the capability of differentiation [J]. *Stem Cells Dev*, 2006, 15(6): 921-929.
- [31] Yamazaki S, Mizumoto T, Nasu A, *et al.* Regulation of osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells by two axial rotational culture [J]. *J Artif Organs*, 2011, 14(4): 310-317.
- [32] Meng R, Xu HY, Di SM, *et al.* Human mesenchymal stem cells are sensitive to abnormal gravity and exhibit classic apoptotic features [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2011, 43(2): 133-142.
- [33] Shi DY, Meng R, Deng WL, *et al.* Effects of microgravity modeled by large gradient high magnetic field on the osteogenic initiation of human mesenchymal stem cells [J]. *Stem Cell Rev*, 2010, 6(4): 567-578.
- [34] 毛新建, 宋关斌, 罗庆, 等. 微重力效应对骨髓间充质干细胞增殖分化影响的研究进展 [J]. *医用生物力学*, 2013, 28(1): 115-120.
- Mao XJ, Song GB, Luo Q, *et al.* Progress of microgravity effects on proliferation and differentiation of bone mesenchymal stem cells [J]. *J Med Biomech*, 2013, 28(1): 115-120.
- [35] Buravkova LB, Romanov YA, Konstantinova NA, *et al.* Cultured stem cells are sensitive to gravity changes [J]. *Acta Astronaut*, 2008, 63(5-6): 603-608.
- [36] Zheng Q, Huang GP, Yang JF, *et al.* Could the effect of modeled microgravity on osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells be reversed by regulation of signaling pathways [J]. *Biol Chem*, 2007, 388(7): 755-763.
- [37] Saxena R, Pan G, McDonald JM. Osteoblast and osteoclast differentiation in modeled microgravity [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1116: 494-498.
- [38] Meyers VE, Zayzafoon M, Douglas JT, *et al.* RhoA and cytoskeletal disruption mediate reduced osteoblastogenesis and enhanced adipogenesis of human mesenchymal stem cells in modeled microgravity [J]. *J Bone Miner Res*, 2005, 20(10): 1858-1866.
- [39] Wu X, Li SH, Lou LM, *et al.* The effect of the microgravity rotating culture system on the chondrogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Mol Biotechnol*, 2012, 54(2): 331-336.
- [40] Gershovich LG, Buravkova LB. Interleukine production in culture of mesenchymal stromal cells of humans during simulation of the microgravity effects [J]. *Aviakosm Ekolog Med*, 2009, 43(3): 44-50.
- [41] Gershovich PM, Gershovich LG, Buravkova LB. Expression of cytoskeleton genes in culture of human mesen-

- chymal stromal cells in different periods of simulating the effects of microgravity [J]. *Aviakosm Ekolog Med*, 2011, 45(4): 39-41.
- [42] Gershovich PM, Gershovich LG, Buravkova LB. Cytoskeleton structures and adhesion properties of human stromal precursors under conditions of simulated microgravity [J]. *Tsitologiya*, 2009, 51(11): 896-904.
- [43] Franceschi RT, Xiao G. Regulation of the osteoblast-specific transcription factor, Runx2: Responsiveness to multiple signal transduction pathways [J]. *J Cell Biochem*, 2003, 88(3): 446-454.
- [44] Ducey P, Zhang R, Geoffroy V, *et al.* Osf2/Cbfa1: A transcriptional activator of osteoblast differentiation [J]. *Cell*, 1997, 89(5): 747-754.
- [45] Meyers VE, Zayzafoon M, Gonda SR, *et al.* Modeled microgravity disrupts collagen I/integrin signaling during osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells [J]. *J Cell Biochem*, 2004, 93(4): 697-707.
- [46] Pan ZJ, Yang JF, Guo CJ, *et al.* Effects of hindlimb unloading on ex vivo growth and osteogenic/adipogenic potentials of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in rats [J]. *Stem Cells Dev*, 2008, 17(4): 795-804.
- [47] Grigoryan EN, Anton HJ, Mitashov VI. Real and simulated microgravity can activate signals stimulating cells to enter the S phase during lens regeneration in urodelean amphibians [J]. *Adv Space Res*, 2006, 38(6): 1071-1078.

· 致读者 ·

论文写作中的注意事项

论文的写作前言主要概述研究的背景、目的、研究思路、理论依据等。有些研究还应说明该研究开始的具体时间。前方必须开门见、简要、清楚,切忌套话、空话、牵涉面过宽、详述历史过程或复习文献过多等。不要涉及本研究中的数据或结论。不要与摘要雷同。未经检索,前言中不可写“国内外未曾报道”等字样,也不可自我评价达到“xx水平”或“填补xx空白”等。前言通常不需要标题。论著文稿的前言一般不超过250字;比较短的论文可以只用小段文字起前言作用。

方法主要介绍研究对象(人或实验动物,包括对照组)的选择及其基本情况,以及研究所采用的方法及观察指标。常用标题有“材料与方法”、“对象与方法”、“资料与方法”等。

临床研究需交代病例和对照者的来源、选择标准及研究对象的年龄、性别和其他重要特征等,并应注明参与研究者是否知情同意。临床随机对照组研究应交代干预方法(随机方法)和所采用的盲法。实验研究需注明动物的名称、种系、等级、数量、来源、性别、年龄、体重、饲养条件和健康状况等。

个人创造的方法应详细说明“方法”的细节,以备他人重复。改进的方法应详述改进之外,并以引用文献的方式给出原方法的出处。原封不动地使用他人方法,应以引用文献的方式给出方法的出处,无须展开描述。

药品、试剂应使用化学名,并注明剂量、单位、纯度、批号、生产单位和生产时间。仪器、设备应注明名称、型号、规格、生产单位、精密度或误差范围。无须描述其工作原理。

统计学处理项应说明统计分析方法及其选择依据。

结果的叙述应客观真实、简洁明了、重点突出、层次分明、合乎逻辑,不应与讨论内容混淆。若文稿设有图表,则正文不需重述其全数据,只需摘述其主要发现或数据。若使用文字描述,内容冗长烦琐不易读懂,则应改用图或表来表达数据,以收到一目了然的效果。应认真核对正文和图表的数据,达到准确、统一。统计学分析应交代统计方法、统计值,仅有P值不能体现重要的定量信息。

讨论应着重讨论研究中的新发现及从中得出的结论,包括发现的意义及其限度,以及对进一步研究的启示。若不能导出结论,出可以进行必要的讨论,提出建议、设想、改进的意见或待解决的问题。应将研究结果与其他有关的研究相联系,并将本研究的结论与目的相关联。不必重述已在前言和结果部分详述过的数据或资料。不要过多罗列文献。避免作不成熟的主观推断。讨论中一般不应设置图或表。