

文章编号:1004-7220(2016)03-0278-06

# 高重力下成骨细胞的力学生物学响应

李 军<sup>1,3</sup>, 张春秋<sup>2</sup>, 宋光明<sup>1</sup>, 孙明林<sup>1\*</sup>, 李瑞欣<sup>3</sup>, 张西正<sup>3</sup>(1. 武警后勤学院, 天津 300162; 2. 天津市先进机电系统设计与智能控制重点实验室, 天津 300084;  
3. 军事医学科学院 卫生装备研究所, 天津 300161)

**摘要:** 骨适应性力学环境中,成骨细胞作为骨形成的主要功能细胞,也是感应力学载荷的主要细胞之一。目前随着科技的发展,越来越多的航天员、飞行员等暴露于高重力环境中。为了更好了解和认识高重力下成骨细胞的力学生物学响应,综述高重力下成骨细胞形态及增殖、基因表达、细胞因子分泌以及信号转导通道等力学生物学方面的研究进展,为高重力环境下骨组织的力学生物学研究提供思路和准备。

**关键词:** 成骨细胞; 高重力; 生物力学

中图分类号: R318.01 文献标志码: A

DOI: 10.3871/j.1004-7220.2016.03.278

## The mechanobiology responses of osteoblasts under hypergravity

LI Jun<sup>1,3</sup>, ZHANG Chun-qiu<sup>2</sup>, SONG Guang-ming<sup>1</sup>, SUN Ming-lin<sup>1\*</sup>, Li Rui-xin<sup>3</sup>,  
ZHANG Xi-zheng<sup>3</sup> (1. Logistics Institute of Chinese People's Armed Police Force, Tianjin 300162, China;  
2. Tianjin Key Laboratory for Advanced Mechatronic System Design and Intelligent Control, Tianjin 300384,  
China; 3. Institute of Medical Equipment, The Academy of Military Medical Sciences, Tianjin 300161, China)

**Abstract:** In the environment of adaptive mechanics, osteoblasts, which are the main functional cells of bone formation, are one of the main cells in response to the mechanical loading. With the development of technology, more and more astronauts, pilots and other are exposed to the hypergravity environment. In order to better understand the mechanobiology response of osteoblasts under hypergravity, this paper reviews the mechanobiological research progress in morphology, gene expression, cytokine secretion and signal transduction pathways of osteoblasts, so as to thoughts and preparations for mechanobiology research of bone tissues in hypergravity environment.

**Key words:** Osteoblast; Hypergravity; Biomechanics

在载人航天器的发射与返回、舰载机的起飞与降落以及过山车等娱乐设施高加速的加载中,航天员、飞行员及娱乐人员等通常要暴露于高重力力学环境中,故有必要研究高重力对人体骨骼的影响研究。载人航天器发射与返回过程中,航天员承受正加速度可达到5~8 g,负加速度值为4~5 g,而异常

情况下如应急返回时超重值会大大高于正常值<sup>[1]</sup>。现代高性能战斗机作战或训练时,例如航母舰载机起降,飞行员经常承受高加速度冲击,第3代及4代战机可产生高达9~12 g的高加速度。

骨是维持人体生命的重要器官,是人体承担力学载荷的主要结构,它具有支持、运动和保护功能,

收稿日期:2015-07-02; 修回日期:2015-10-09

基金项目:国家自然科学基金项目(11432016,31370942,11372221)。

通信作者:张春秋,研究员,Tel:(022)60214133,E-mail:zhang\_chunqiu@126.com;

孙明林,副教授,Tel:(022)60578952,E-mail:sunmlren@sohu.com。

\*为共同通信作者

对矿物代谢平衡也起至关重要的作用。骨重建可保持骨生物力学特性稳定,对维持骨强度具有重要意义。成骨细胞(osteoblast)由骨原细胞分化而来,比骨原细胞体积大,呈矮柱状或立方体,核大而圆,胞质嗜碱性,含有丰富的碱性磷酸酶,是骨形成的主要功能细胞,负责骨基质的合成、分泌和矿化。成骨细胞是对应力敏感的主要细胞之一,高重力下成骨细胞力学生物学方面会发生一系列变化,高重力改变对细胞的形态、发育和功能也可能起着重要的调节作用。因此,本文针对高重力下成骨细胞力学生物学的研究进展进行综述,以期高重力下成骨细胞力学生物学响应的研究提供思路 and 理论依据。

## 1 高重力对成骨细胞形态及增殖的影响

成骨细胞对高重力刺激很敏感。在高重力环境中,成骨细胞能积极响应高重力刺激,在形态学及增殖水平发生一系列变化。张舒<sup>[2]</sup>研究发现,小鼠成骨细胞暴露于 3 g 高重力下 72 h,细胞形态以扁圆状为主,生长速度增快。丁柏等<sup>[3]</sup>发现,地面实验模拟空间发射超重环境时,3 g 高重力环境下成骨样细胞紧密连接成片、分裂旺盛、增殖迅速并堆叠生长。Miwa 等<sup>[4]</sup>研究表明,当成骨样细胞(MC3T3-E1)暴露在 2~5 g 水平仅 15 min,28 h 后再分析时发现,细胞增殖显著增加。然而 Kawashima 等<sup>[5]</sup>研究表明,成骨样细胞(ROS17/2.8)在 60 g 超重离心下 24、48 h 再分析时发现,细胞计数显著减少。Furutsu 等<sup>[6]</sup>用不同水平高重力刺激成骨细胞时发现,低水平高重力(1.5~2.0 g)可刺激 ROS17/2.8 细胞的增殖,而将 ROS17/2.8 细胞暴露于高水平高重力(40~80 g)下则获得完全相反的结果,即抑制细胞增殖。Loon 等<sup>[7]</sup>研究发现,整个成骨细胞团暴露于高重力 2~3 g 下时平均高度减少 30%~50%。Kacena 等<sup>[8]</sup>在高重力条件下体外培养鸡胚颅骨的原代成骨细胞,结果发现,暴露于 3.3 和 4.0 g 高重力下 3 h~6 d 的成骨细胞周长和表面积都显著增加(分别为 14%~24%和 33%~58%),在 4.0 g 下离心 2 d 可导致肌动蛋白纤维宽度增加 49%,每个成骨细胞肌动蛋白纤维的数量增加了 160%。Searby 等<sup>[9]</sup>发现,在 10 g 高重力刺激不成熟的成骨细胞 3 h,微管网络高度减少 1.12 倍,但细胞核未发生变化,细胞活力不受影响。Kacena 等<sup>[10]</sup>为了更好了解

在重力作用下体外成骨细胞的附着和生长,将 17 日龄鸡胚颅骨成骨细胞暴露于方向变化的高重力,结果表明细胞面朝上组与倒立组相比,细胞总数或附着细胞总数之间差异(大多数时间点)无统计学意义。

这些实验结果提示,成骨细胞对高重力刺激信号的响应可能存在一个“临界点”,当“临界点”以下高重力刺激成骨细胞时表现为促进增殖作用,当“临界点”以上高重力刺激时则表现为增殖被抑制。在高重力下成骨细胞形状以扁圆为主,微管网络高度降低、周长和表面积以及肌动蛋白纤维的厚度显著增加且呈高重力大小依赖性。融合的成骨细胞已经附着到基板时,附着能力和活力不受重力方向变化的影响。

## 2 高重力对成骨细胞基因表达的调控

生物体的生长发育一直受到地球引力的影响,细胞的增殖、分化和功能的发挥均受基因调控,可以发生在基因的转录、翻译和翻译后以及细胞和细胞间等不同水平。

### 2.1 即早基因(c-fos)

C-fos 是一种原癌基因(proto-oncogene),属于快速早期基因(immediate-early genes, IEGs),表达产物主要包括转录因子、DNA 结合蛋白、分泌蛋白、细胞骨架蛋白以及受体的亚单位。表达的产物还可以作为第 3 信使,跨核膜向胞浆内传导。第 3 信使受磷酸化修饰后,最终活化晚期反应基因并导致细胞增生或核型变化。近年来国内外研究表明,成骨细胞的增殖分化与 c-fos 基因的表达关系十分密切。

Chow 等<sup>[11]</sup>最早提出 c-fos 基因是骨细胞对机械刺激信号反应的标志。朱赴东等<sup>[12]</sup>研究体外成骨细胞的力学响应时发现,离心力可诱导 c-fos mRNA 水平,在离心作用 15 min 后显著升高,随后逐渐下降,数小时后则恢复到正常水平。Fitzgerald 等<sup>[13]</sup>通过 MC3T3-E1 细胞无血清条件在模拟航天飞机发射而设计的离心程序下 1.00~2.94 g 离心 30 min 后,早期反应基因 c-fos 的 mRNA 水平显著增加 89% ( $P < 0.05$ ),3 h 后恢复到对照组水平。先前已证实高重力可上调 MC3T3-E1 细胞的早期反应基因 c-fos 和 egr-1、c-myc<sup>[14]</sup>。Nose 等<sup>[15]</sup>研究发现,在 900 g 下离心 5 min 发生短暂的 c-fos mRNA 增加,在离心后 30 min 达峰值,2 h 后回落到对照组水平;高

重力 50 g 短暂刺激培养的 MC3T3-E1 细胞诱导早期反应基因(如 c-fos 和 egr-1)表达上调,而 c-Jun 的表达只受到轻微影响;c-fos 达最大诱导时,高重力需要超过 900 g 且呈高重力大小依赖性,但 egr-1 在低于 50 g 的高重力下表达就可达最大值。Tjandrawinata 等<sup>[16]</sup>研究发现,MC3T3-E1 无血清条件下暴露于振动高重力(7.83 g)时,c-fos mRNA 表达水平在振动高重力刺激后 30 h 内明显上调。c-fos 的表达与成骨细胞的增殖和分化以及骨折修复密切相关<sup>[17]</sup>。

从以上这些实验结果可知,高重力刺激可使成骨细胞 c-fos 基因明显上调呈高重力大小依赖性;并且成骨细胞 c-fos 对高重力响应可能存在一个“上限值”,当高重力大小超过这一值时,c-fos 表达水平达最高不再随高重力水平上升而上升;高重力可影响成骨细胞的分化;c-fos 可作为成骨细胞对高重力刺激的早期反应标记。

## 2.2 核心结合因子(core binding factor alpha 1, Cbfa1)

多种基因参与成骨细胞对其自身的生成及功能调控,其中最重要的是 Cbfa1。Cbfa1 又称为 Runx2,是成骨过程最早表达并最具有特异性的转录因子,是应力作用于成骨细胞的靶点<sup>[18]</sup>。多种骨形成标记物如 I 型胶原蛋白、碱性磷酸酶、骨桥蛋白等的启动子都存在 Cbfa1 的结合位点,前成骨细胞向成熟成骨细胞的分化均需要 Cbfa1 的转录激活。

仝飞飞<sup>[19]</sup>在研究不同重力条件对 Cbfa1 活性及信号通路的影响时发现,成骨样细胞 MG63 细胞在 3 g 作用下能够提高 p85 蛋白磷酸化水平,上调 Cbfa1 的表达水平;与对照组相比,MG63 细胞在超重 2 d 时,Cbfa1 活性显著提高。卞琴等<sup>[20]</sup>为探讨模拟重力加压的可行性,观察其对前成骨细胞株 OCT-1 成骨功能的影响时,发现 200 r/min 压力组 Cbfa1 mRNA 表达显著上调( $P < 0.01$ ),约为对照组的 3.6 倍,表明离心后 Cbfa1 的基因表达上调。Morita 等<sup>[21]</sup>发现,成骨细胞在高重力 12 g 下培养 24 h 后与对照组相比,Cbfa1 mRNA 水平增加了 247%。Howlett 等<sup>[22]</sup>认为,高重力促进 Cbfa1 的转录激活。因此,高重力可使 Cbfa1 转录激活,并通过其相关信号通路作用于成骨细胞分化。

## 2.3 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)

ALP 是成骨细胞和骨细胞主要的功能活性酶,

富含于胞浆中,可以分解有机质中的磷酸,提高局部无机磷酸的浓度,促进矿化过程<sup>[3]</sup>。ALP 活性是骨形成早期阶段的重要标志。

仝飞飞<sup>[19]</sup>以 MG63 为研究对象,研究不同重力因素对成骨细胞分化的影响时发现,在 3 g 下培养 2 d 的 MG63 细胞胞内 ALP 染色明显深于对照组,而且高重力条件下,培养液上清中 ALP 活性检测的结果与胞内 ALP 检测结果相一致。卞琴等<sup>[20]</sup>将前成骨细胞株 OCT-1 在不同转速离心高重力下培养,发现 200 r/min 下离心培养 1 d 后,ALP mRNA 表达显著上调( $P < 0.05$ ),约为对照组的 1.2 倍;200、500 r/min 下离心培养 5 d 后,ALP mRNA 表达均显著上调( $P < 0.01$ ),分别为对照组的 1.2 和 2.8 倍。Saito 等<sup>[24]</sup>将 MC3T3-E1 细胞分别在高重力 20 和 40 g 下孵育 72 h 后检测发现,20 和 40 g 高重力加载组的 ALP 活性分别为对照组的 117% 和 134%。Yano 等<sup>[25]</sup>将来源于青鳉的原代培养的成骨细胞分别暴露于离心或振动高重力 2~4 g 下,不同时间检测 ALP 发现,与对照组相比,在离心高重力 2 g 加载下孵育 6 h 后的成骨细胞 ALP 活性显著增加;在 3 和 4 g 振动高重力负荷加载下孵育 6 h 后 ALP 活性明显增加。Kawashima 等<sup>[5]</sup>发现,新鲜分离的成骨细胞和成骨样细胞在受到高水平高重力(60 g)刺激时,ALP 活性升高,且呈高重力大小和持续时间依赖性。

由此得出,高重力可有效刺激成骨细胞 ALP 活性,离心高重力对 ALP 活性的刺激作用强于振动高重力,并且 ALP 活性上升呈高重力大小和暴露持续时间依赖性,表明高重力可有效刺激成骨细胞分化。

## 2.4 骨钙素(osteocalcin, OC)

OC 是骨中最丰富的骨细胞外基质蛋白,是由成骨细胞合成、分泌的一种维生素 K 依赖性钙结合蛋白,具有骨代谢调节激素的作用。其主要生理功能是维持骨的正常矿化速率,抑制异常的羟基磷灰石结晶的形成,抑制生长软骨矿化的速度,是成熟成骨细胞的特异性标志。

张舒<sup>[2]</sup>和 Searby 等<sup>[9]</sup>证实,高重力可以增加原代培养的成骨细胞的 OC 表达,且呈高重力暴露持续时间依赖性。Kawashima 等<sup>[5]</sup>发现,新鲜分离的成骨细胞和 ROS17/2.8 细胞在高水平高重力 60 g 和 80 g 下暴露 1h 后 OC 的合成显著增加且呈高重

力大小依赖性。Prodanov 等<sup>[26]</sup>发现,使用纳米纹理基底膜培养的成骨细胞在 10 g 下 7 d 后检测发现 OC mRNA 表达和基质矿化水平显著增高。Morita 等<sup>[21]</sup>研究发现原代培养的成骨细胞在 12 g 下暴露 24 h, OC mRNA 水平为对照组水平的 187%;然而在 48 g 下暴露 24 h, OC mRNA 水平为对照组水平的 75%。Fitzgerald 等<sup>[13]</sup>的实验数据表明, MC3T3-E1 细胞在 3 g 下离心后 30 min OC mRNA 水平降低到对照组的 70%, 而后继续降低, 在 3 h 的时间点时 OC mRNA 水平降低到对照组的 44% ( $P < 0.005$ )。Tjandrawinata 等<sup>[16]</sup>研究发现, 当 MC3T3-E1 细胞在无血清条件下暴露于振动高重力 (7.83 g) 时, 在振动后 3 h 内 OC mRNA 表达水平明显下降。

从上述研究结果可见, 成骨细胞响应高重力时 OC 发生明显改变, 但在 MC3T3-E1 细胞的实验结果比较一致, 即高重力下 OC 表达下调; 但在其他细胞系中差异较大。

### 2.5 I 型胶原蛋白 (type I collagen, COL I)

COL I 是成骨细胞分化扩增晚期、基质形成早期的产物, 它的合成在细胞增殖期占主导地位, 在骨形成与矿化过程发挥着重要作用<sup>[27]</sup>与早期成骨分化有关。

卞琴等<sup>[20]</sup>将前成骨细胞株 OCT-1 在不同转速离心高重力下培养发现, 200 和 500 r/min 下离心培养 1 d 后, 与对照组相比, COL I 荧光显色略有增强; 培养 5 d 后, 与对照组相比, COL I 荧光显色明显增强。Saito 等<sup>[23]</sup>研究发现, 与对照组相比, MC3T3-E1 细胞在 20 g 和 40 g 下细胞层胶原蛋白沉积分别为对照组的 1.16 和 1.31 倍, 表明高重力条件下 COL I 的积累显著增加且呈高重力大小依赖性。Gebken 等<sup>[28]</sup>研究发现, 人成骨样细胞在 13 g 下 24 h 后胶原蛋白合成显著增加, I 型胶原  $\alpha 2$  的 mRNA 表达增强, 且发现高重力刺激胶原蛋白的合成是暂时的、可逆的。Kawashima 等<sup>[5]</sup>发现新鲜分离的成骨细胞和 ROS17/2.8 细胞受到高水平高重力 (60 和 80 g) 刺激 1 h 后, COL I 的合成显著增加且呈高重力大小依赖性。

从上述研究可见, 高重力刺激对成骨细胞的 COL I 合成有着重要的刺激作用且呈高重力大小和暴露持续时间依赖性。

## 3 高重力对成骨细胞代谢及细胞因子的调节

细胞因子是由免疫细胞 (如单核、巨噬、T、B 和 NK 细胞等) 和某些非免疫细胞 (如内皮、表皮和纤维母细胞等) 经刺激而合成、分泌的一类具有广泛生物学活性的小分子蛋白质。通过结合相应受体调节细胞生长、分化和效应, 调控免疫应答。

### 3.1 前列腺素 E<sub>2</sub> (prostaglandin E<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>)

PGE<sub>2</sub> 对骨组织的代谢起重要的调节作用, 已证实它是成骨细胞在受到应力作用后产生的主要细胞因子, 在骨骼的功能适应性中发挥着重要的作用。

Miwa 等<sup>[4]</sup>研究发现, MC3T3-E1 细胞暴露于 5 g 下时, PGE<sub>2</sub> 的生成显著增加 ( $P < 0.05$ )。Searby 等<sup>[9]</sup>研究发现, 初期成骨细胞对高重力的响应较已分化的成骨细胞敏感, 在 10 和 50 g 下暴露 3 h 后检测发现, 释放的 PGE<sub>2</sub> 分别是在正常重力环境下释放量的 2.5 和 5.3 倍, 高重力诱导的 PGE<sub>2</sub> 释放量在第 6 d 达最大值, 而后开始逐渐下降。然而 Tjandrawinata 等<sup>[16]</sup>研究发现, 当 MC3T3-E1 细胞在无血清条件下, 暴露于振动高重力 (7.83 g) 下检测发现培养基中 PGE<sub>2</sub> 水平无明显变化。

这些结果提示适当时间范围的高重力可有效刺激成骨细胞释放 PGE<sub>2</sub>, 且呈高重力大小和暴露持续时间依赖性。至于 Tjandrawinata 等<sup>[16]</sup>研究发现, 当 MC3T3-E1 细胞暴露于振动高重力 (7.83 g) 下检测发现细胞外 PGE<sub>2</sub> 水平无明显变化, 可能是由于无血清环境缺乏 PGE<sub>2</sub> 合成所需的底物导致, 具体原因还需进一步实验研究。

### 3.2 转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )

在体内, 成骨细胞可合成并分泌 TGF- $\beta$ , 通过自分泌或旁分泌的形式促进成骨细胞的增殖及其活性, 来调节局部的骨组织生成。

Kacena 等<sup>[18]</sup>研究表明, 模拟航天发射初始阶段单因素振动高重力 ( $\leq 7.83$  g) 或离心高重力 ( $\leq 3$  g) 均可使成骨样细胞系的 TGF- $\beta$  表达明显下降。Tjandrawinata 等<sup>[16]</sup>实验发现, MC3T3-E1 细胞暴露于振动高重力 (7.83 g) 下时, 与对照组相比较 TGF- $\beta 1$  mRNA 表达水平在振动后 3 h 内明显下降 ( $P < 0.01$ )。表明较低水平高重力可抑制成骨细胞分泌 TGF- $\beta 1$ 。而 Fitzgerald 等<sup>[13]</sup>发现, MC3T3-E1

细胞在无血清条件下,1.00~2.94 g 下离心 30 min 或 3 h 后检测发现 TGF- $\beta$ 1 mRNA 水平没有变化,可能是由于无血清环境缺乏 TGF- $\beta$ 1 合成所需的底物导致,具体原因还需进一步研究。

#### 4 高重力下成骨细胞的信号转导

目前研究发现,成骨细胞可以通过细胞骨架-整合素-胰岛素受体底物 1-磷脂酰肌醇-3-激酶(Integrin-IRS-PI3K)和骨形态发生蛋白 2-促分裂素原活化蛋白激酶(BMP-2/p38MAPKs)信号通路响应高重力刺激。

##### 4.1 Integrin-IRS-PI3K 途径

细胞骨架是细胞内的重要结构之一,由微丝、微管及中间丝组成,有研究证实高重力下成骨细胞微管网络高度减少<sup>[9]</sup>、肌动蛋白纤维宽度和数量均增加<sup>[8]</sup>。而整合素为一类发挥信号受体作用的异源二聚体跨膜蛋白,在胞外可与基质蛋白相结合,在胞内粘着斑处通过接头蛋白与肌动蛋白细胞骨架相连,从而构成整合素-细胞骨架系统<sup>[29-30]</sup>。Dai 等<sup>[23]</sup>研究发现,MC3T3-E1 细胞在 3 g 下 48 h 后检测发现整合素  $\alpha_v$  和  $\beta_3$  mRNA 水平显著增加。整合素  $\alpha_v\beta_3$  复合体通过其  $\beta_3$  亚基和 IRS1 之间的相互作用参与激活 Cbfa1,多种骨形成标记物如 I 型胶原蛋白、碱性磷酸酶、骨桥蛋白等的启动子都存在 Cbfa1 的结合位点,前成骨细胞向成熟成骨细胞分化均需要 Cbfa1 的转录激活<sup>[31]</sup>,可见 Integrin-IRS-PI3K 通路在成骨细胞响应高重力刺激作用中有着重要的信号转导作用。

##### 4.2 BMP-2/p38MAPKs 途径

骨形态发生蛋白-2 (bone morphogenetic protein 2, BMP-2)是 TGF- $\beta$  超家族成员之一,是一种分泌性多功能蛋白,可通过自分泌和旁分泌,在细胞及细胞间质之间传导信息,调节细胞的增殖和分化。丁晓青等<sup>[32]</sup>研究发现,当 BMP-2 与细胞表面具有高亲和性的 BMPR-I 连接形成复合体,并通过 BMPR-I 招募胞质中游离的 BMPR-II 共同形成异聚体, BMPR-I 通过桥蛋白 XIAP、TAB1 再与 TAK1 间接连接, TAK1 激活 P38MAPK,转导了 BMP-2 的信号途径。并证明抑制 p38MAPK 可抑制 ALP、OC 的表达。此外, p38MAPK 还可通过直接磷酸化转录因子 Cbfa1 等,或间接激活另外一些激酶继而使下游目

的基因发生转录,表达成骨特异分子,如 ALP、OC、骨涎蛋白等。有研究证实, MC3T3-E1 细胞是通过 BMP-2/p38MAPKs 途径响应离心高重力刺激,作用于 Cbfa1 而影响成骨特异性基因表达的<sup>[33-34]</sup>。Gebken 等<sup>[28]</sup>研究发现,人成骨样细胞在 13 g 下 24 h 后 p44/42 (ERK-1/2) 蛋白激酶的磷酸化水平显著升高, MAPK 通路被激活。当添加 PD98059 后 (MAPK 的特异性抑制剂),高重力诱导刺激胶原蛋白的合成以及 I 型胶原  $\alpha 2$  mRNA 的表达水平约为对照组的 50%,而在正常重力下 PD98059 对其没有影响,表明 MAPK 通路在高重力诱导人成骨样细胞胶原合成的增加中起到了重要作用。由此可见,高重力下 BMP-2/p38MAPKs 途径在成骨细胞响应高重力刺激作用中有着重要的信号转导作用。

#### 5 总结及展望

综上所述,高重力刺激对成骨细胞的形态、增殖和分化功能有着重要的调节作用,但高重力刺激对成骨细胞力学生物学效应仍需要更深入研究。目前研究者模拟高重力给予成骨细胞刺激时所采用的实验设备均为自制设备,且工作环境也不完全相同,这方面目前尚无统一标准,如何使加载设备和环境统一,让不同学者之间的实验结果更具可比性将是未来研究的热点。如何更科学有效地对成骨细胞高重力刺激,使其朝着既定方向发展以及其重复性将是后续研究的重点之一。高重力刺激诱导成骨细胞分化的信号转导通路、转导机制和成骨细胞如何感受高重力刺激将胞外力信号转化为胞内化学信号引起细胞的应答反应,都是今后研究的重要内容。此外,高重力与新型材料(或某些试剂药品)诱导成骨细胞骨向分化的协同作用和作用机理以及骨向分化作用在临床上的具体应用也将是今后研究的要点。

#### 参考文献:

- [1] 马爱军,黄晓慧. 载人航天环境模拟技术的发展[J]. 航天医学与医学工程, 2008, 21(3): 224-32.
- [2] 张舒. 不同重力环境对大鼠成骨细胞力学信号转导功能的影响[D]. 西安:第四军医大学博士学位论文, 2000.
- [3] 丁柏,汪恭质,张晓铀,等. 模拟失重和超重刺激对体外培养成骨瘤细胞分裂、增殖影响的研究[J]. 航天医学与医学工程, 1997, 10(2): 104-107.

- [4] Miwa M, Kozawa O, Tokuda H, *et al.* Effects of hypergravity on proliferation and differentiation of osteoblast-like cells [J]. *Bone Miner*, 1991, 14(1): 15-25.
- [5] Kawashima K, Shibata R, Negishi Y, *et al.* Stimulative effect of high-level hypergravity on differentiated functions of osteoblast-like cells [J]. *Cell Struct Funct*, 1998, 23(4): 221-229.
- [6] Furutsu M, Kawashima K, Negishi Y, *et al.* Bidirectional effects of hypergravity on the cell growth and differentiated functions of osteoblast-like ROS17/2. 8 cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2000, 23(10): 1258-1261.
- [7] van Loon JJ, van Laar MC, Korterik JP, *et al.* An atomic force microscope operating at hypergravity for *in situ* measurement of cellular mechano-response [J]. *J Microsc*, 2009, 233(2): 234-243.
- [8] Kacena MA, Todd P, Gerstenfeld LC, *et al.* Experiments with osteoblasts cultured under hypergravity conditions [J]. *Microgravity Sci Technol*, 2004, 15(1): 28-34.
- [9] Searby ND, Steele CR, Globus RK. Influence of increased mechanical loading by hypergravity on the microtubule cytoskeleton and prostaglandin E2 release in primary osteoblasts [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2005, 289(1): C148-158.
- [10] Kacena MA, Todd P, Gerstenfeld LC, *et al.* Experiments with osteoblasts cultured under varying orientations with respect to the gravity vector [J]. *Cytotechnology*, 2002, 39(3): 147-154.
- [11] 宋梅, 闫玉仙, 张永亮. 应力作用下成骨细胞的信号转导及基因调控[J]. *武警医学院学报*, 2009, 18(6): 549-552
- [12] 朱赴东, 赵士芳, 童晓艳, 等. 成骨细胞中 NO 及 c-fos 对流体剪切力的作用[J]. *浙江大学学报*, 2006, 35(5): 479-485.
- [13] Fitzgerald J, Hughes-Fulford M. Gravitational loading of a simulated launch alters mRNA expression in osteoblasts [J]. *Exp Cell Res*, 1996, 228(1): 168-171.
- [14] Kumei Y, Nakajima T, Sato A, *et al.* Reduction of G1 phase duration and enhancement of c-myc gene expression in HeLa cells at hypergravity [J]. *J Cell Sci*, 1989, 93 (Pt 2): 221-226.
- [15] Nose K, Shibamura M. Induction of early response genes by hypergravity in cultured mouse osteoblastic cells (MC3T3-E1) [J]. *Exp Cell Res*, 1994, 211(1): 168-170.
- [16] Tjandrawinata RR, Vincent VL, Hughes-Fulford M. Vibrational force alters mRNA expression in osteoblasts [J]. *FASEB J*, 1997, 11(6): 493-497.
- [17] Closs EI, Murray AB, Schmidt J, *et al.* c-fos expression precedes osteogenic differentiation of cartilage cells *in vitro* [J]. *J Cell Biol*, 1990, 111(3): 1313-1323.
- [18] Ziros PG, GilA P, Georgakopoulos T, *et al.* The bone-specific transcriptional regulator Cbfa1 is a target of mechanical signals in osteoblastic cells [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(26): 23934-23941.
- [19] 全飞飞. 用荧光强度反映 Cbfa1 活性成骨细胞模型的构建及其应用研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2009.
- [20] 卞琴, 杨铸, 刘书芬, 等. 离心加压对前成骨细胞株 OCT-1 成骨功能的影响[J]. *医用生物力学*, 2010, 25(6): 449-455.
- [21] Bian Q, Yang Z, Liu S F, *et al.* Effects of centrifugating pressure on the function of preosteoblast OCT-1 [J]. *J Med Biomech*, 2010, 25(6): 449-445.
- [22] Morita S, Nakamura H, Kumei Y, *et al.* Hypergravity stimulates osteoblast phenotype expression: A therapeutic hint for disuse bone atrophy [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2004, 1030: 158-161.
- [23] Howlett CR, Cave J, Williamson M, *et al.* Mineralization in *in vitro* cultures of rabbit marrow stromal cells [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1986, 213: 251-263.
- [24] Dai Z, Guo F, Wu F, *et al.* Integrin alphavbeta3 mediates the synergetic regulation of core-binding factor alpha1 transcriptional activity by gravity and insulin-like growth factor-1 through phosphoinositide 3-kinase signaling [J]. *Bone*, 2014, 69: 126-132.
- [25] Saito M, Soshi S, Fujii K. Effect of hyper- and microgravity on collagen post-translational controls of MC3T3-E1 osteoblasts [J]. *J Bone Miner Res*, 2003, 18(9): 1695-705.
- [26] Yano S, Kitamura K, Satoh Y, *et al.* Static and dynamic hypergravity responses of osteoblasts and osteoclasts in medaka scales [J]. *Zoolog Sci*, 2013, 30(3): 217-223.
- [27] Prodanov L, van Loon JJ, TE RJ, *et al.* Substrate nanotexture and hypergravity through centrifugation enhance initial osteoblastogenesis. *Tissue Eng Part A*, 2013, 19(1-2): 114-124.
- [28] 丁波, 黄姣, 何斌. 成骨生长肽对大鼠成骨细胞 I 型胶原蛋白的影响[J]. *重庆医科大学学报*, 2007, 32(9): 951-953.
- [29] Gebken J, Luders B, Notbohm H, *et al.* Hypergravity stimulates collagen synthesis in human osteoblast-like cells; Evidence for the involvement of p44/42 MAP-kinases (ERK 1/2) [J]. *J Biochem*, 1999, 126(4): 676-682.
- [30] 于妍, 陈雷, 程黎明. 细胞力感受蛋白协同 TNTs 介导 BMSCs 分化中力学信号转导的研究进展[J]. *医用生物力学*, 2013, 28(4): 472-476.
- Yu Y, Chen L, Cheng LM. Progress of mechnotransduction in differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells mediated by cellular mechanosensor and TNTs [J]. *J Med Biomech*, 2013, 28(4): 472-476.
- [31] 邢娟, 罗彦凤, 李岩, 等. 黏着斑-细胞骨架系统介导流体剪切力力转导研究进展[J]. *医用生物力学*, 2014, 29(3): 292-298.