

· 基础研究 ·

脉冲电磁场对去卵巢骨质疏松症大鼠成骨细胞和破骨细胞凋亡的影响

谢肇 李起鸿 许建中 孟萍

【摘要】目的 观察脉冲电磁场(PEMF)对去卵巢骨质疏松症(OVX-OP)大鼠成骨细胞、破骨细胞凋亡的影响,并探讨 PEMF 治疗 OVX-OP 的作用机制。**方法** 取 6 月龄雌性未孕 Wistar 大鼠 40 只,随机分为假手术组、卵巢切除组(模型组)、卵巢切除+雌激素替代治疗组(雌激素组)和卵巢切除+PEMF 治疗组(电磁场组)。模型组、电磁场组和雌激素组均行双侧卵巢切除术,假手术组不切除卵巢。术后第 9 周开始治疗:雌激素组采用苯甲酸雌二醇肌肉注射,剂量为 0.5 mg/kg 体重,每 2 周注射 1 次;电磁场组大鼠暴露于 PEMF 中,每日 1 次,每次 1 h。模型组和假手术组动物不予以任何治疗。治疗 10 周后处死各组实验动物,取左侧胫骨上 1/3 进行骨形态计量学检查。采用原位 DNA 末端标记染色法(TUNEL 法)和透射电镜检测 L₆ 椎体成骨细胞、破骨细胞的凋亡情况。采用免疫组织化学法检测 L₆ 椎体成骨细胞、破骨细胞中 Fas、Bax 和 Bcl-2 的表达。**结果** ①透射电镜观察显示,电磁场组成骨细胞活性增强,无明显凋亡征象;而破骨细胞活性减弱,可见典型细胞凋亡征象。②电磁场组的成骨细胞凋亡指数明显低于模型组($P < 0.05$),而破骨细胞凋亡指数明显高于模型组($P < 0.05$)。③电磁场组 Fas 阳性成骨细胞数明显少于模型组,Fas 阳性破骨细胞数明显多于模型组($P < 0.05$),成骨细胞 Bax/Bcl-2 显著降低($P < 0.05$),破骨细胞 Bax/Bcl-2 显著增高($P < 0.05$)。④电磁场组 OVX-OP 大鼠骨小梁面积百分数、骨小梁厚度、骨小梁数量明显高于模型组,而骨小梁分离度明显低于模型组($P < 0.05$)。**结论** PEMF 对 OVX-OP 大鼠成骨细胞凋亡具有抑制作用,对破骨细胞凋亡具有促进作用,这可能是其治疗 OVX-OP 的机制之一。

【关键词】 绝经后骨质疏松; 脉冲电磁场; 成骨细胞; 破骨细胞; 凋亡

Impact of pulsed electromagnetic fields on osteoblast and osteoclast apoptosis of ovariectomy osteoporosis rats XIE Zhao, LI Qi-hong, XU Jian-zhong, MENG Ping. Department of Orthopaedics, Shouthwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

Corresponding author: XIE Zhao, Email: xiezhaos4981@yahoo.com.cn

【Abstract】Objective To observe the impact of pulsed electromagnetic fields on osteoblast and osteoclast apoptosis of ovariectomy osteoporosis (OVX-OP) rats and to explore the mechanism of the therapeutic effect of electromagnetic fields in postmenopausal osteoporosis. **Methods** Forty six-month old female Wistar rats were randomly divided into 4 different groups according to body mass: ovariectomy group (OVX), Sham operation group (Sham), E group (Estrogen + OVX) and PEMF group (PEMF + OVX). All rats were subjected to bilateral ovariectomy except those in the sham operation group. At 8 weeks after the operation, E group rats were given estrogen 0.5 mg/kg body weight, once every 2 weeks. PEMF group rats were exposed to bionics electromagnetic fields for 1 h/d. OVX and Sham group rats were given no intervention. All the treatments were being kept for 10 weeks. After the treatments finished, specimens of left tibia were collected for histomorphometry analysis, the osteoblast and osteoclast apoptosis condition in lumbar vertebrae by transmission electric microscope and TUNEL technique. At the same time, the expression of apoptosis controlling gene Fas, Bax, Bcl-2 protein were determined by immunohistochemistry. **Results** Compared with OVX group, %Tb, Ar, Tb, Th, Tb, N, significantly increased ($P < 0.01$) in EMF group. On the other hand, Tb, Sp significantly were lower than those in the OVX group ($P < 0.05$). Observation of transmission electric microscope and TUNEL examination showed that PEMF stimulation exposure attenuated the apoptosis of osteoblast, elevated the apoptosis of osteoclast ($P < 0.05$). PEMF stimulation exposure significantly attenuated Fas and Bax expression and increased Bcl-2 protein expression in osteoblast. PEMF stimulation exposure significantly increased Fas and Bax protein expression and decreased Bcl-2 protein expression in osteoclast. **Conclusion** The PEMF stimulation exposure could restrain Fas and Bax protein expression and facilitate Bcl-2 protein expression in osteoblast, and facilitate Fas and Bax protein expression and restrain Bcl-2 protein expression in osteoclast, promote the osteoclast apoptosis and control osteoblast apoptosis.

【Key words】 Postmenopausal, osteoporosis; Pulsed electromagnetic fields; Osteoblasts; Osteoclasts; Apoptosis

作者单位:400038 重庆,第三军医大学附属西南医院骨科

通讯作者:谢肇,Email: xiezhaos4981@yahoo.com.cn

脉冲电磁场(pulsed electromagnetic fields, PEMF)是近年发展起来的治疗骨质疏松症的生物物理手段之一。大量的临床和实验研究证明了 PEMF 治疗骨质疏松症的有效性,然而对其作用机制的解释多是基于压电效应(piezoelectric effect)和机械应力能诱导成骨第一信号等传统的生物物理学理论,难以将其对骨质疏松的治疗作用完全阐明。破骨细胞和成骨细胞是骨组织的重要功能细胞,二者功能的耦联维持着骨量的稳定。新近的研究表明,雌激素低下引起的破骨细胞和成骨细胞异常凋亡,是骨吸收-骨形成脱耦联从而导致骨质疏松的重要原因^[1,2]。目前治疗骨质疏松症的药物,如雌激素、双磷酸盐等均具有调节细胞凋亡的作用^[3-5]。因此,探讨 PEMF 对成骨细胞和破骨细胞凋亡的调节作用可能是揭示其治疗骨质疏松症的分子生物学机制的重要切入点。为此,我们通过研究 PEMF 对去卵巢骨质疏松症(ovariectomy osteoporosis, OVX-OP)大鼠破骨细胞、成骨细胞凋亡的影响,就 PEMF 治疗 OVX-OP 的可能机制进行了探讨。

材料与方法

一、实验动物与分组

取 6 月龄雌性未孕 Wistar 大鼠 40 只,体重(250 ± 50)g,由第三军医大学实验动物中心提供。随机分为假手术组、卵巢切除组(模型组)、卵巢切除 + 雌激素替代治疗组(雌激素组)和卵巢切除 + PEMF 治疗组(电磁场组),每组 10 只。

二、试剂与仪器

药品与试剂:苯甲酸雌二醇由上海第九制药厂生产(1995 沪准字 009004);原位 DNA 末端标记染色(TdT-mediated biotinylated-dUTP nick labeling, TUNEL)试剂盒、免疫组织化学链霉亲和素-生物素过氧化物酶复合物(streptavidin biotin peroxidase complex, SABC)试剂盒为博士德公司产品;四环素和钙黄绿素为美国 Sigma 公司产品。

仪器:法国 GK 公司产 Challenger 全身双能量(X-线)骨密度测定仪,附小动物骨密度测定软件;日本产 Technai-10 透射电子显微镜;Union2000 型 PEMF 骨质疏松治疗仪(大鼠型)由中国医学科学院生物医学工程研究所提供;德国产 Leica2155 型硬组织切片机;半自动图像数字化分析仪,包括日本产 Nikon 荧光显微镜,美国产图像数字化板、微机、体视学显微镜和形态学程序“Stereology”体视学软件。

三、模型的建立

各组大鼠分别吸入乙醚麻醉,在严格的无菌操作下,取腰椎后侧正中切口,椎旁钝性分离肌肉组织,切开腹膜,进入腹腔。模型组、雌激素组和电磁场组行双

侧卵巢切除术,假手术组采取的手术方法相同,但不切除卵巢。术后各组大鼠分笼饲养,动物在(24 ± 2)℃、湿度 60% ~ 70%、定期紫外线消毒和通风、14 h 间隔照明的条件下,自由摄取标准饲料和消毒的蒸馏水。术后 8 周大鼠骨密度显著降低为骨质疏松动物模型造模成功标志^[6]。

四、动物处理

雌激素组于术后 9 周采用苯甲酸雌二醇肌肉注射,剂量为 0.5 mg/kg 体重,每 2 周注射 1 次。电磁场组于术后第 9 周采用 Union2000 PEMF 骨质疏松治疗仪(大鼠型)进行治疗,动物暴露于均匀磁场中,自由活动,每日 1 次,每次 1 h。选择参数:频率为 8 和 12 Hz,频率自动跳变周期为 30 s;最大磁场感应强度为 11 mT。模型组和假手术组不给予任何干预。各组动物饲养条件不变。治疗 10 周后,采用乙醚吸入麻醉各组动物,开胸放血处死,迅速取出 L₆ 椎体并纵行劈开,一半用于透射电镜观察及 TUNEL 法检查细胞凋亡情况,另一半用于免疫组织化学检查,取左侧胫骨近 1/3 段进行骨形态计量学检查。

五、透射电镜观察

将用于透射电镜观察的部分 L₆ 椎体松质骨修剪成 1 mm × 1 mm × 1 mm 的松质骨块,参照 Kafantari 等^[7]介绍的方法进行处理:以 2.5% 戊二醛中固定,环氧树脂包埋,超薄切片,用醋酸双氧铀和 70% 硝酸铅双重染色后,于 Technai-10 型电镜下观察观察各组大鼠骨细胞凋亡情况并照相。

六、TUNEL 法检查

将用于 TUNEL 法检查的 L₆ 椎体骨块经过常规处理后,用切片机纵行连续切片,切片厚 6 μm,粘贴于用 10% 多聚赖氨酸包埋的载玻片上,60℃ 烤箱中烘烤 12 ~ 24 h 后进行 TUNEL 检查,按试剂说明进行操作。细胞浆着棕黄色为阳性细胞。每张切片于 200 倍显微镜下观察 6 个视野(朝同一方向移动切片,不重复),分别计数成骨细胞、破骨细胞总数及凋亡细胞数,以每百个细胞中的凋亡细胞数作为凋亡指数(apoptosis index, AI)。

七、成骨细胞、破骨细胞中 Fas、Bax 和 Bcl-2 表达的检测

用于 Fas、Bax、Bcl-2 免疫组织化学检查的 L₆ 椎体经常规处理后,切片机纵行连续切片,切片厚 6 μm,粘贴于用 10% 多聚赖氨酸包埋的载玻片上,60℃ 烤箱中烘烤 12 ~ 24 h 后进行免疫组织化学检测。采用 SABC 试剂盒,一抗为 Fas、Bax 和 Bcl-2。切片经脱蜡、梯度酒精脱水、蒸馏水水化、过氧化氢灭活内源性过氧化物酶、蒸馏水漂洗、胰蛋白酶消化和血清封闭等常规步骤后,滴加第一抗体(大鼠抗 Fas 单克隆抗体 20 μl,工作浓度为 1:100);于 10℃ 下过夜,0.1 mol/L PBS 泡洗

5 min × 2 次;切片放置于 0.01 mol/L、pH 值为 6.0 的柠檬酸钠缓冲液中,于微波炉中加热至沸腾 2 min,自然冷却 10 min 后再煮沸 2 min,自然冷却;用 pH 值为 7.4 的 PBS 液冲洗,封闭血清,底物加入 37℃ 的 SABC 作用 20 min, DAB 显色,镜下控制染色时间约 10 ~ 15 min;苏木素复染 3 min,冰醋酸乙醇分色,充分水洗;60℃ 下烤干,中性树脂封片。用 PBS 代替一抗作为阴性对照。Bax、Bcl-2 免疫组织化学步骤同上。

阳性细胞计数方法:胞浆着棕黄色为阳性细胞。每个标本 5 张切片,每张切片在 400 倍光镜下选择 5 个视野,计数各组成骨细胞和破骨细胞的 Fas、Bax 和 Bcl-2 阳性细胞并进行比较。

八、骨形态计量学测定

大鼠处死前第 14、13 天分别于皮下注射四环素 (25mg/kg 体重),处死前第 4、3 天分别于皮下注射钙黄绿素 (5 mg/kg 体重) 作荧光标记。取左侧胫骨上 1/3 于 70% 乙醇中固定,乙醇逐级脱水,用甲基丙烯酸甲酯、邻苯二甲酸二丁酯 (软化剂) 和催化剂包埋不脱钙骨。包埋块干燥后用 Leica2155 型硬组织切片机切成厚度为 10 μm 的厚片和 4 μm 的薄片,厚片用于荧光测量,薄片染色后用于细胞的观察。

用半自动图像数字化分析仪对胫骨上 1/3 作静态和动态检测。静态参数包括:骨小梁面积百分数 (反映骨量的变化)、骨小梁数、骨小梁厚度和骨小梁分离度 (反映骨小梁的显微结构)。动态指标包括:四环素标记周长百分率 (代表成骨细胞数)、骨小梁总周长的破骨细胞数。

九、统计学分析

所有数据均以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 SPSS 10.0 版统计软件进行多组间 *F* 检验,用 LSD 检验进行各组间的两两比较, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

一、透射电镜观察结果

1. 成骨细胞

模型组的成骨细胞功能状态不一,既可见功能活跃的成骨细胞 (细胞体积变大,核浆比缩小,细胞器较丰富),也可见凋亡成骨细胞 (细胞体积小,呈扁平型,细胞器不发达,甚至出现异染色质边聚),见图 1,表明成骨细胞处于高代谢状态。假手术组的成骨细胞形状多呈扁平,胞质和细胞器较少,核染色较深,为静止相成骨细胞,未见凋亡的成骨细胞,见图 2,表明成骨细胞处于低代谢的稳定状态。电磁场组的成骨细胞体积较大,细胞器较丰富,粗面内质网数量多,且囊腔有不同程度的扩张,线粒体发达,未见凋亡成骨细胞,见图 3。雌激素组的成骨细胞功能活跃,与电磁场组相似,但数量较少,未见凋亡成骨细胞。

2. 破骨细胞

模型组可见破骨细胞,多核,胞体较大,胞浆内有大量的囊泡状物质,细胞的皱褶缘较清楚,未见凋亡破骨细胞,见图 4,表明破骨细胞凋亡少,功能活跃。假手术组的破骨细胞数量少,胞体较小,胞浆内囊泡状物质少,细胞的皱褶缘较小,功能稳定,见图 5。电磁场组可见功能退变的破骨细胞和典型的凋亡破骨细胞,见图 6。雌激素组少见典型的破骨细胞,可见典型的凋亡破骨细胞 (细胞核浓缩,异染色体边聚),见图 7。

二、TUNEL 检测结果

模型组的成骨细胞凋亡指数显著高于雌激素组、电磁场组和假手术组 (均 *P* < 0.05),差异有统计学意义;雌激素组和电磁场组的成骨细胞凋亡指数均明显高于假手术组 (均 *P* < 0.05);但雌激素组和电磁场组间比较,差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。说明 PEMF 和雌激素对成骨细胞凋亡均具有明显的抑制作用,但经过 10 周的治疗,尚未达到正常水平。假手术组、雌激素组和电磁场组的破骨细胞凋亡指数均明显高于模型组 (*P* < 0.05),差异有统计学意义;雌激素组、电磁场组的破骨细胞凋亡指数均高于假手术组,其中雌激素组与假手术组比较,差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。说明 PEMF 和雌激素对破骨细胞凋亡均具有显著的促进作用。见表 1,图 8 ~ 11。

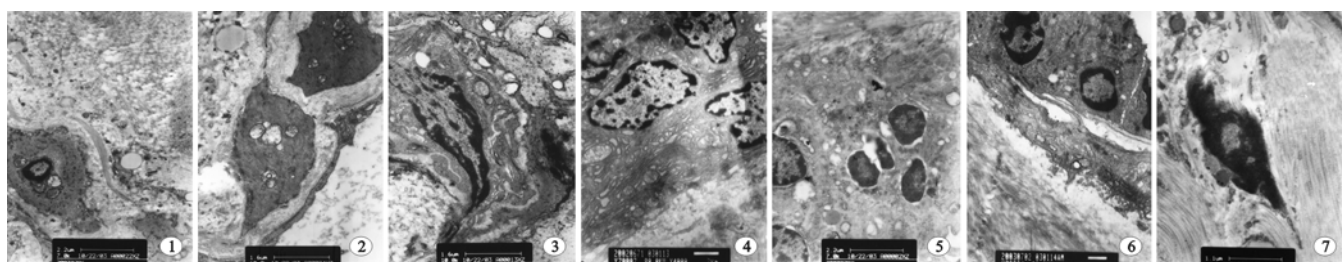


图 1 模型组成骨细胞镜下观 (×6 000); 图 2 假手术组成骨细胞镜下观 (×6 000); 图 3 电磁场组成骨细胞镜下观 (×6 000); 图 4 模型组破骨细胞镜下观 (×6 000); 图 5 假手术组破骨细胞镜下观 (×6 000); 图 6 电磁场组破骨细胞镜下观 (×6 000); 图 7 雌激素组破骨细胞镜下观 (×6 000)

表 1 各组成骨细胞、破骨细胞 AI 比较(%, $\bar{x} \pm s$)

组 别	n	成骨细胞 AI	破骨细胞 AI
假手术组	10	3.44 ± 0.17	5.54 ± 0.48
模型组	10	35.79 ± 1.91 ^a	1.48 ± 0.26 ^a
电磁场组	10	4.57 ± 0.42 ^{ab}	7.45 ± 0.24 ^b
雌激素组	10	4.39 ± 0.13 ^{ab}	7.63 ± 1.70 ^{ab}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$

三、各组成骨细胞、破骨细胞 Fas、Bax、Bcl-2 的表达

各组 Fas、Bax 阳性成骨细胞数比较,模型组明显高于雌激素组、电磁场组和假手术组,差异有统计学意义($P < 0.05$);电磁场组、雌激素组明显高于假手术组,差异有统计学意义($P < 0.05$);雌激素组 Fas 和 Bax 与电磁场组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。各组 Bcl-2 阳性成骨细胞数比较,模型组明显低于雌激素组、电磁场组和假手术组,差异有统计学意义($P < 0.05$);电磁场组、雌激素组明显低于假手术组,差异有统计学意义($P < 0.05$);雌激素组与电磁场组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。破骨细胞 Fas、Bax 及 Bcl-2 的表达呈现相反的趋势。电磁场组和雌激素组的破骨细胞 Bax/Bcl-2 明显高于模型组,而成骨细胞 Bax/Bcl-2 明显低于模型组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

四、各组大鼠骨形态计量学检测结果

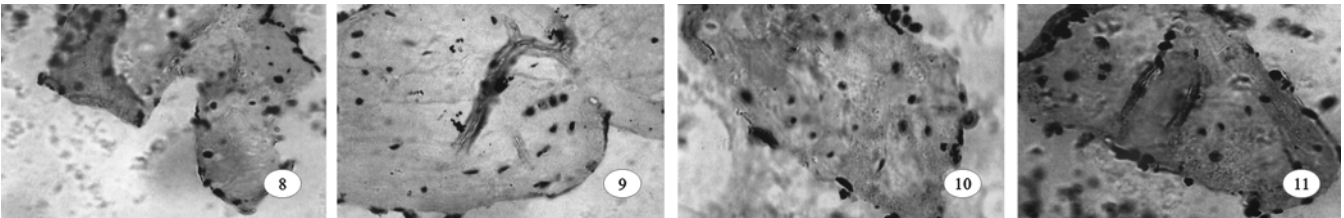


图 8 模型组凋亡细胞(TUNEL, $\times 400$); 图 9 假手术组凋亡细胞(TUNEL, $\times 400$); 图 10 电磁场组凋亡细胞(TUNEL, $\times 400$); 图 11 雌激素组凋亡细胞(TUNEL, $\times 400$)

表 2 成骨细胞、破骨细胞中 Fas、Bax 和 Bcl-2 表达以及 Bax/Bcl-2 比值的比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	成骨细胞				破骨细胞			
		Fas(%)	Bax(%)	Bcl-2(%)	Bax/Bcl-2	Fas(%)	Bax(%)	Bcl-2(%)	Bax/Bcl-2
假手术组	10	19.92 ± 1.85	15.85 ± 2.31	27.89 ± 1.08	0.57 ± 0.09	42.58 ± 1.51	28.94 ± 1.97	11.03 ± 1.12	2.65 ± 0.37
模型组	10	42.02 ± 3.15 ^a	34.64 ± 2.15 ^a	12.50 ± 1.51 ^a	2.77 ± 0.32 ^a	22.45 ± 1.24 ^a	12.67 ± 2.13 ^a	25.17 ± 1.94 ^a	0.51 ± 0.09 ^a
电磁场组	10	25.58 ± 1.29 ^{ab}	20.95 ± 2.00 ^{ab}	23.59 ± 1.53 ^{ab}	0.89 ± 0.11 ^{ab}	33.33 ± 1.46 ^{ab}	23.59 ± 1.39 ^{ab}	17.79 ± 1.77 ^{ab}	1.34 ± 0.17 ^{ab}
雌激素组	10	24.16 ± 1.56 ^{ab}	18.41 ± 2.38 ^{ab}	25.96 ± 1.87 ^{ab}	0.71 ± 0.15 ^{ab}	35.15 ± 0.03 ^{ab}	26.04 ± 2.04 ^{ab}	15.15 ± 1.25 ^{ab}	1.73 ± 0.15 ^{ab}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$

表 3 各组大鼠骨形态计量学检测指标($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	静态指标				动态指标	
		骨小梁面积百分数(%)	骨小梁厚度(μm)	骨小梁数量(个/mm)	骨小梁分离度(mcm)	周长百分率(%)	骨小梁总周长(个/mm)
假手术组	10	9.18 ± 1.57	62.32 ± 3.46	1.37 ± 0.21	1 067.68 ± 168.36	0.06 ± 0.02	19.67 ± 1.34
模型组	10	5.19 ± 0.67 ^a	47.24 ± 7.55 ^a	0.63 ± 0.06 ^a	2 429.80 ± 210.28 ^a	0.27 ± 0.02 ^a	40.60 ± 1.38 ^a
电磁场组	10	6.52 ± 0.55 ^{ab}	57.29 ± 5.39 ^{ab}	1.33 ± 0.22 ^b	1 213.68 ± 173.44 ^b	0.18 ± 0.09 ^{ab}	33.79 ± 2.94 ^{ab}
雌激素组	10	6.96 ± 0.50 ^{ab}	59.98 ± 4.28 ^b	1.31 ± 0.23 ^b	1 194.48 ± 48.33 ^b	0.15 ± 0.07 ^{ab}	25.98 ± 2.01 ^{ab}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$

电磁场组骨小梁面积百分数、骨小梁厚度、骨小梁数量显著高于模型组($P < 0.05$);电磁场组骨小梁分离度显著低于模型组($P < 0.05$);与雌激素组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

各组周长百分率比较,模型组明显高于雌激素组、电磁场组和假手术组($P < 0.05$);电磁场组和雌激素组明显高于假手术组($P < 0.05$)。骨小梁总周长比较,模型组明显高于雌激素组、电磁场组和假手术组;电磁场组和雌激素组明显高于假手术组。说明 PEMF 或雌激素治疗可改善骨转换状态,PEMF 治疗对骨转换的抑制作用较小。见表 3。

讨 论

细胞凋亡是基因调控下的程序性死亡,细胞正常有序的凋亡是机体发育及内环境稳定的必要条件,细胞异常凋亡与多种疾病的发生有关。雌激素低下引起的破骨细胞凋亡减少、成骨细胞凋亡增加是绝经后骨质疏松症发生的关键。因此,促进破骨细胞凋亡、抑制成骨细胞凋亡是逆转骨吸收-骨形成脱耦联,治疗骨质疏松症的关键所在。为此,本研究对骨组织中成骨细胞和破骨细胞的凋亡情况进行了观察。透射电镜发现,模型组的破骨细胞多核,胞体较大,胞浆内有大量的囊泡状物质,细胞的皱褶缘较清楚,提示其功能活

跃;而成骨细胞体积小,细胞器不发达,功能退变甚至出现凋亡征象。雌激素组、电磁场组可见破骨细胞功能退变,同时可见典型的凋亡破骨细胞。细胞凋亡活性检测结果显示,经过 PEMF 治疗,成骨细胞凋亡活性下降,而破骨细胞的凋亡活性明显增强;成骨细胞、破骨细胞计数发现,PEMF 治疗后成骨细胞和破骨细胞数明显低于模型组,与雌激素治疗组相近。细胞凋亡的发生一般在数分钟内完成,在电镜下很少能观察到典型的细胞凋亡。我们的观察结果表明,雌激素低下使破骨细胞凋亡减少,功能活跃,成骨细胞凋亡增加,导致成骨细胞减少、破骨细胞数量增多;而雌激素具有促进破骨细胞凋亡,抑制成骨细胞凋亡的作用,其结果是成骨细胞和骨细胞数增加,破骨细胞数减少,与既往的研究结果相似^[8],电磁场组应用 PEMF 后也抑制了雌激素低下引起的成骨细胞凋亡,促进了破骨细胞凋亡,使成骨细胞数增加,破骨细胞数减少。

细胞凋亡的发生有赖于特定基因的转录与蛋白质合成。Bcl-2 家族是近年来研究较多的凋亡相关基因,主要包括 Bax 和 Bcl-2。Bcl-2 是凋亡抑制基因,其编码的 Bcl-2 蛋白过表达可保护细胞免于凋亡;Bax 是凋亡促进基因,其基因产物 Bax 蛋白具有对抗 Bcl-2 蛋白抑制凋亡的作用^[8];Bax 与 Bcl-2 的比值是决定细胞凋亡发生与否的关键:Bax/Bcl-2 增高促进细胞凋亡,比值下降则抑制细胞凋亡^[4]。Fas 是人体多种细胞表面的膜蛋白,是介导细胞凋亡的重要分子之一^[9]。有研究表明,Fas 对细胞凋亡的介导作用是通过 Bax 和 Bcl-2 的调节来实现。本研究发现,经 PEMF 治疗后,Fas 阳性成骨细胞数及成骨细胞 Bax/Bcl-2 显著低于模型组;Fas 阳性破骨细胞数、破骨细胞 Bax/Bcl-2 明显高于模型组,其变化趋势与雌激素治疗组相似。说明 PEMF 可抑制破骨细胞 Bcl-2 的表达,促进破骨细胞 Fas 和 Bax 的表达,同时促进成骨细胞 Bcl-2 的表达,抑制成骨细胞 Fas 和 Bax 的表达,这可能是 PEMF 促进破骨细胞凋亡、抑制成骨细胞的重要机制。

本研究骨形态计量学结果显示,经 PEMF 治疗后,

OVX-OP 大鼠骨小梁面积百分数、骨小梁厚度及骨小梁数量均显著提高,而骨小梁分离度明显减小,表明 PEMF 可增加 OVX-OP 大鼠的骨量,改善其骨结构,对骨质疏松有明显的治疗作用。

总之,本研究表明 PEMF 对 OVX-OP 大鼠成骨细胞凋亡具有抑制作用,而对破骨细胞凋亡则具有促进作用,其对成骨细胞和破骨细胞中 Fas、Bax 和 Bcl-2 表达的影响可能是其调节破骨细胞和成骨细胞凋亡,治疗 OVX-OP 的机制之一。至于 PEMF 通过何种途径影响破骨细胞和成骨细胞中 Fas、Bax 和 Bcl-2 的表达,从而调节破骨细胞和成骨细胞的凋亡,还有待进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Weinstein RS, Manolagas SC. Apoptosis and osteoporosis. *Am J Med*, 2000, 108:153-164.
- [2] Jilka RL, Takahashi K, Munshi M, et al. Loss of estrogen upregulates osteoblastogenesis in the murine bone marrow. Evidence for autonomy from factors released during bone resorption. *J Clin Invest*, 1998, 101: 1942-1950.
- [3] Tomkinson A, Reeve J, Shaw RW, et al. The death of osteocytes via apoptosis accompanies estrogen withdrawal in human bone. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82:3128-3135.
- [4] Hughes DE, Dai A, Tiffie JC, et al. Estrogen promotes apoptosis of murine osteoclasts mediated by TGF-beta. *Nat Med*, 1996, 2:1132-1136.
- [5] Bord S, Beavan S, Ireland D, et al. Mechanisms by which high-dose estrogen therapy produces anabolic skeletal effects in postmenopausal women: role of locally produced growth factors. *Bone*, 2001, 29:216-222.
- [6] 谢肇,李起鸿,孟萍,等. 仿生脉冲电磁场对去卵巢骨质疏松大鼠骨生物力学性能的影响. *中国康复理论与实践*, 2004, 10, 577-579.
- [7] Kafantari H, Kounadi E, Fatouros M, et al. Structural alterations in rat skin and bone collagen fibrils induced by ovariectomy. *Bone*, 2000, 26: 349-353.
- [8] Kajstura J, Mansukhani M, Cheng W, et al. Programmed cell death and expression of the proto gene Bcl-2 in myocytes during postnatal maturation of the heart. *Exp Cells Res*. 1995, 219:110-118.
- [9] Peleg S, Uskokovic M, Ahene A, et al. Cellular and molecular events associated with the bone-protecting activity of the noncalcemic vitamin D analog Ro-26-9228 in osteopenic rats. *Endocrinology*, 2002, 143: 1625-1636.

(收稿日期:2006-07-09)

(本文编辑:吴 倩)

· 征 订 ·

欢迎订阅 2007 年《中国康复理论与实践》杂志

《中国康复理论与实践》杂志是由中国残疾人康复协会、中国医师协会和中国康复研究中心主办的国家级核心学术期刊,为国家科技部中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊,同时也是国家药监局批准的处方药广告专业媒体。本刊创立于 1995 年 12 月,国际标准大 16 开版式,铜版纸印刷,月刊,96 内页,ISSN 1006-9771, CN 11-3759/R; 每册定价 8 元,全年定价 96 元(含邮费),年终出版合订本,每套 80 元;本刊广告许可证号:京丰工商广字第 0043 号。本刊邮发代号 82-35,国外邮发代号 M-6607,也可直接通过本编辑部订阅。

在办刊方针上,本刊以康复医学为龙头,以宣传全面康复为宗旨,不断增加社区康复内容,充分体现理论与实践相结合、普及与提高并重的特点。以专题为特色,体现“新、高、快”,突出科学性和创新性。符合本刊快速通道的稿件包括:①国家级、省部级科研基金项目论文;②拟报国家级或省部级奖项的论文;③符合专题内容的论文,同时也会兼顾临床及基层等方面的优秀稿件。