

· 基础研究 ·

雷帕霉素与低频电磁场联合应用对大鼠骨髓间充质干细胞成骨效应的影响

易智谦 宋明宇 虞冀哲 刘阳 韦盛 杨勇 李峰 吴华

【摘要】目的 观察雷帕霉素与低频电磁场联合运用对大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)成骨效应的影响。**方法** 选取成年 SD 大鼠 15 只,采用体外分离法培养大鼠 BMSCs,传代 3 次后接种至细胞培养板中,将其分为对照组、雷帕霉素组、电磁场刺激组和联合应用组。对照组应用达尔伯改良伊格尔培养基(DMEM)进行培养;雷帕霉素组在 DMEM 中加入浓度为 5 nM 的雷帕霉素;电磁场刺激组则在 DMEM 基础上给予频率为 15 Hz、强度为 1 mT 的脉冲电磁场刺激;联合应用组在加入浓度为 5 nM 雷帕霉素的 DMEM 基础上给予频率为 15 Hz、强度为 1 mT,每天 1 h 的脉冲电磁场刺激。分别于干预后 7 d、14 d 和 21 d,提取细胞的总 RNA 和总蛋白,采用茜素红染色后置于显微镜下观察,分析比较不同时间点各组的成骨效应。**结果** 7 d 后,联合应用组的早期成骨效应优于雷帕霉素组,雷帕霉素组的早期成骨指标家畜相关转移因子-2(Runx2)基因表达量明显高于对照组($P < 0.05$),电磁场刺激组 Runx2 基因表达量与对照组差异无统计学意义($P > 0.05$);14 d 及 21 d 后,雷帕霉素组及电磁场刺激组的中期成骨指标骨唾液酸蛋白(BSP)和晚期成骨指标骨桥蛋白(OPN)的基因表达量均显著高于对照组($P < 0.05$),联合应用组 BSP 和 OPN 基因表达量明显低于雷帕霉素组($P < 0.05$)。**结论** 单独应用雷帕霉素和电磁场刺激具有良好的促成骨效应,二者联合应用时,促成骨效应减弱。

【关键词】 雷帕霉素; 成骨诱导剂; 电磁场; 联合成骨

The synergistic effect of rapamycin and a low frequency pulsed electromagnetic field on the genesis of bone marrow mesenchymal stem cells YI Zhi-qian, SONG Ming-yu, YU Ji-zhe, LIU Yang, WEI Sheng, YANG Yong, LI Feng, WU Hua. Department of Orthopedics, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Corresponding author: WU Hua, Email: wuhua360@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To study whether Rapamycin and a low frequency pulsed electromagnetic field (LFPEMF) have synergistic effects on osteogenesis. **Methods** Bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs) were isolated from 4-week-old Sprague-Dawley rats (male, 60-80 g) and cultured. The passage three BMSCs were transplanted into six well plates. The wells were divided into a control group in which the cells were cultivated in Dulbecco's modification of Eagle's medium (DMEM), a rapamycin group in which the cells were cultivated in DMEM containing 5 nM rapamycin, an electromagnetic field group in which the cells were cultivated in DMEM in a LFPEMF, and a combined treatment group in which the cells were cultivated in DMEM containing rapamycin in a LFPEMF. Proteins and RNA were extracted and the calcium disposition was stained using alizarin red after 7, 14 and 21 days of incubation. Real-time PCR or western blotting was then used to detect any differences in the expression of the RUNX2, BSP, OPN or BMP2 genes. **Results** After 7 days of incubation the mRNA expression of the early osteogenesis indicator RUNX2 in the rapamycin group was significantly higher than that in the control group, while the expression of RUNX2 in the LFPEMF group did not differ significantly from that among the controls. The mRNA expression of the middle and late osteogenesis indicators BSP and OPN in the LFPEMF and rapamycin groups were significantly higher than in the control group in the middle (14 d) and late (21 d) periods, but the combined treatment group showed a much weaker effect than in the LFPEMF and rapamycin groups, as shown by significantly lower expression of BSP and OPN. **Conclusions** A LFPEMF does not have an obvious osteogenic effect in the early stimulating period, but is effective in the middle and late periods. LFPEMFs have no synergistic effect with rapamycin on osteogenesis.

【Key words】 Rapamycin; Osteogenesis; Osteogenesis inducers; Electromagnetic fields

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2013.05.002

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51077065);湖北省自然科学基金(2011CDC032)

作者单位:430030 武汉,华中科技大学同济医学院附属同济医院骨科

通信作者:吴华,Email: wuhua360@yahoo.com.cn

自 20 世纪 70 年代初 Bassett 等^[1]应用脉冲电磁场治疗骨不连取得成功后,许多学者开始研究脉冲电磁场在分子、细胞、组织形态等方面的作用机制。雷帕霉素(rapamycin)又名西罗莫司(sirolimus),是哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)通路的特异性阻滞剂,作为目前世界上公认的强效免疫相关抑制剂,在临床上主要被用于抵抗器官移植后的排斥反应和治疗自身免疫性疾病等。近期有研究发现^[2],雷帕霉素有一定的成骨效应。目前,雷帕霉素与电磁场刺激联合应用对成骨效应影响的相关研究较少,基于上述背景,本文旨在验证单独应用雷帕霉素和电磁场刺激对骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)的成骨效应,并在此基础上探讨二者联合应用对 BMSCs 的成骨效应。

材料和方法

一、实验材料

1. 实验动物:健康成年清洁级雄性 Sprague-Dawley (SD)大鼠 15 只,体重 60~80 g,鼠龄 4~6 周,由同济医学院动物实验中心提供。

2. 实验试剂及仪器:主要实验试剂包括胎牛血清(Gibco 公司)、达尔伯改良伊格尔培养基(Dulbecco's modified Eagle medium, DMEM)(Hyclone 公司)、Trizol 试剂(Invitrogen 公司)、胰蛋白酶(Amersco 公司)、茜素红(北京华迈科生物技术有限责任公司)、逆转录试剂盒及 SYBO Green 荧光定量试剂盒(TOYOBO 公司)、青链霉素混合液(Solarbio 公司)、家禽相关转移因子-2(runt-related transcription factor-2, RUNX2)兔抗大鼠抗体及骨形态发生蛋白-2(bone morphogenesis protein-2, BMP-2)兔抗大鼠抗体(Novus Biological 公司)、雷帕霉素及细胞组织快速裂解液(上海碧云天生物技术公司)、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)羊抗兔标记二抗(Cell Signaling Technology 公司)、凝胶制备试剂盒(武汉博士德公司)、化学发光试剂(electrochemiluminescence, ECL)(Thermo 公司)、地塞米松磷酸钠、 β 磷酸甘油钠及抗坏血酸(sigma 公司)、RNA 酶抑制剂和转录酶(TOYOBO 公司);主要实验仪器包括 Heal Force 高速离心机(香港产)、Bio-rad IQ5 荧光定量 PCR 仪(美国产)、Eppendorf Mastercycler PCR 仪(德国产)、Eppendorf Biophotometer 蛋白核酸检测仪(德国产)、Nikon 相差倒置显微镜(日本产)、BioTek 酶标仪(美国产)、PEMFS 发生器(武汉海军工程大学)。

二、BMSCs 的分离及培养

利用颈椎脱臼法将 SD 大鼠处死,沿大鼠髂臼处用无菌剪刀将大鼠的双下肢分离,放置于预冷磷酸盐

缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)中浸泡,分离胫骨及股骨后,将肌肉等软组织剔除干净,用 5 ml 注射器吸取培养基反复冲洗胫骨及股骨髓腔,然后用无菌滴管在培养基里反复吹吸,经过计数、离心后,调整细胞浓度至 5×10^6 个/ml,接种于 2 个 50 ml 的无菌培养瓶中,置于 5% CO_2 浓度、恒温 37℃、饱和湿度的细胞培养箱中培养。3 d 后进行第 1 次换液,之后每隔 3 d 换液 1 次,待细胞铺满瓶底达 80%~90% 后,按 1:2 比例进行传代培养,并于相差倒置显微镜下观察细胞的生长状态。

三、干预方法

将生长状态较好的第 3 代 BMSCs 按照 1×10^5 个/孔接种至六孔细胞培养板中,接种后第 2 天对所有培养板进行编号,按照随机数字表法将培养板分为对照组、雷帕霉素组、电磁场刺激组和联合应用组。对照组单纯采用 DMEM 进行培养;雷帕霉素组在 DMEM 中加入浓度为 5 nM 的雷帕霉素;电磁场刺激组则在 DMEM 基础上给予频率为 15 Hz、强度为 1 mT 的脉冲电磁场刺激,每天 2 h;联合应用组在加入浓度为 5 nM 雷帕霉素的 DMEM 基础上给予频率为 15 Hz、强度为 1 mT 的脉冲电磁场刺激,每天 2 h。

四、细胞总 RNA 的提取及检测

分别于干预 7 d、14 d 及 21 d 后,吸干培养皿中的培养基,用预冷 PBS 液清洗 3 次,除去 PBS 液,加入冰 Trizol 液,反复吹吸后,移入 1.5 ml 离心管中,每管加入氯仿 200 μl ,剧烈震荡 30 s,室温放置 10 min。于 4℃ 环境下,以 12 000 r/min 的速度离心 15 min。离心结束后,吸取无色上清 400 μl ,移入另一 1.5 ml 离心管内,置于冰水中,向管内加入 400 μl 异丙醇,颠倒混匀,静置 10 min。从冰水中取出,于 4℃ 环境下,以 12 000 r/min 的速度离心 10 min。丢弃上清,加入 1 ml 预冷 75% 冰乙醇,于 4℃ 环境下,以 9000 r/min 的速度离心 5 min。丢弃上清,根据离心管内的沉淀量,加入适量由焦碳酸二乙酯(diethylpyrocarbonate, DEPC)处理并经高温高压灭菌后的超纯水,以溶解 RNA。完成后用蛋白质核酸检测仪检测 RNA 的浓度及纯度。

五、荧光定量 PCR 检测

本研究所用引物序列如下:①甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH),上游序列为:5-GACAACCTTTGGCATCGTGGA-3,下游序列为:5-ATGCAGGGATGATGTTCTGG-3;②骨桥蛋白(osteopontin, OPN),上游序列为:5-CAAGGACCAAC-TACAACCA-3,下游序列为:5-GGAGACAGGAG-GCAAGG-3;③Runx2,上游序列为:5-CAAGTGGCCAG-GTTCAACGA-3,下游序列为:5-TGTGAAGACCGTTAT-GGTCAAAGTG-3;④骨唾液酸蛋白(bone sialoprotein,

BSP),上游序列为:5-AGAAAGAGCAGCACGGTTGAG-3,下游序列为:5-TCATAGCCATGCCCTTGTAG-3。

取 1 μg 总 RNA 放入八连管中,加入随机引物,用无 RNA 酶的超纯水补足至 12 μl ,于 PCR 仪上 65 $^{\circ}\text{C}$ 反应 5 min,取出置于冰块上,每管分别加 5 $\times$ 反应缓冲液,共 20 μl 体系,瞬时离心后置于 PCR 仪上,42 $^{\circ}\text{C}$ 预热 20 min,99 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 退火降温 5 min,瞬时离心。于八联管中加入 1 μl 引物,1 μl cDNA,1 μl 2 $\times$ SYBO Green 混合体系,用超纯水补足至 20 μl ,瞬时离心。完成后置于荧光定量 PCR 仪上,95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 1 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s,58 $^{\circ}\text{C}$ 退火延伸 30 s,最后检测荧光机器预设溶解曲线程序,对反应产物进行半定量分析。

六、Western blot 免疫印迹检测

干预 7 d、14 d 及 21 d 后,吸干培养皿中的培养基,用预冷 PBS 液清洗 3 次,控干水分,向每孔中加入细胞裂解液 100 μl ,于冰上静置 5 min 后,收集裂解液于 1.5 ml 离心管中,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 环境下,以 12 000 r/min 的速度离心 15 min,吸取上清,用二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)法测定蛋白浓度,调整浓度后加入 5 $\times$ 蛋白上样缓冲液,99 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 min,于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。取 50 μg 蛋白于 10% 的聚丙烯酰胺凝胶(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)中电泳,恒压 80 V,跑浓缩胶 30 min;恒压 120 V,跑分离胶 1.5 h;恒流 200 mA,将蛋白转至孔径为 0.45 μm 的二氟化树脂(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上,约 2 h,加 5% 脱脂奶粉封闭 1 h,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 环境中孵育一抗过夜,经 TBST 洗膜 15 min 3 次后,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 环境中孵育二抗 1 h,再次经 TBST 洗膜 15 min 3 次后,于暗室中曝光。

七、茜素红染色

干预 14 d 及 21 d 后,吸干培养基,用预冷 PBS 液清洗 3 次,控干水分,加入 95% 乙醇,固定 15 min 后,用双蒸水清洗 1 遍,以 4% 茜素红染色 30 min,用双蒸水清洗 2 遍。

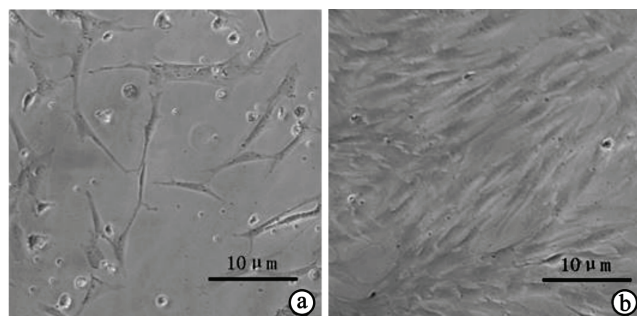
八、统计学分析

采用 SPSS 13.0 版统计学软件进行数据分析。所有数据均采用($\bar{x} \pm s$)形式表示,计量资料比较采用 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验,Runx2、BSP、OPN 基因相对表达量比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

一、BMSCs 的体外分体培养

原代 BMSCs 呈长梭形、细长杆状,第 3 代 BMSCs 形态向多角型变化,细胞变短变粗,见图 1。



注:a 为原代 BMSCs,b 为第 3 代 BMSCs

图 1 原代 BMSCs 和第 3 代 BMSCs 显微镜观察结果($\times 100$)

二、各组 BMSCs 不同时间成骨指标基因表达量的变化情况

干预 7 d 后,雷帕霉素组早期成骨指标 Runx2 的变化较为明显,中期指标 BSP 和晚期指标 OPN 变化不明显,雷帕霉素组 Runx2 的相对表达量远高于对照组、电磁场刺激组和联合应用组($P < 0.05$),对照组 Runx2 的相对表达量高于电磁场刺激组和联合应用组($P < 0.05$),与电磁场刺激组相比,联合应用组 Runx2 的相对表达量较高($P < 0.05$)。

干预 14 d 后,早期成骨指标 Runx2 和中期成骨指标 BSP 的变化明显,晚期成骨指标 OPN 变化不明显,雷帕霉素组 Runx2 的相对表达量仍高于对照组、电磁场刺激组和联合应用组($P < 0.05$),对照组干预 14 d 后的 Runx2 相对表达量低于电磁场刺激组和联合应用组($P < 0.05$),与电磁场刺激组相比,联合应用组 Runx2 的相对表达量较低($P < 0.05$);干预 14 d 后,电磁场刺激组的 BSP 相对表达量高于对照组、雷帕霉素组和联合应用组($P < 0.05$),雷帕霉素组干预 14 d 后的 BSP 相对表达量高于对照组和联合应用组($P < 0.05$),联合应用组的 BSP 相对表达量高于对照组($P < 0.05$)。与干预 7 d 后比较,对照组和联合应用组 Runx2 的相对表达量降低($P < 0.05$),雷帕霉素组和电磁场刺激组 Runx2 的相对表达量增高($P < 0.05$);与干预 7 d 后比较,对照组、雷帕霉素组和电磁场刺激组的 BSP 相对表达量增高($P < 0.05$),联合应用组的 BSP 相对表达量降低($P < 0.05$)。

干预 21 d 后,早、中、晚期成骨指标均变化显著,与干预 14 d 后相比,雷帕霉素组 Runx2 的相对表达量降低($P < 0.05$),BSP 和 OPN 的相对表达量升高($P < 0.05$),电磁场刺激组的 Runx2、BSP 和 OPN 的相对表达量均降低($P < 0.05$),联合应用组的 Runx2、BSP 和 OPN 的相对表达量均增高($P < 0.05$)。

三、免疫印迹检测结果比较

通过观察各组不同时间 BMP2 的表达量后发现,干预 7 d 后,雷帕霉素可明显提升 BMP2 的表达量

($P < 0.05$), 而早期低频电磁场刺激无明显促进作用, 灰度值较对照组小 ($P < 0.05$), 雷帕霉素和电磁场刺激联合应用时, BMP2 的表达量低于对照组 ($P < 0.05$)。干预 14 d 及 21 d 后, 单独应用雷帕霉素或电磁场刺激促进 BMP2 表达的效应变得更为明显 ($P < 0.05$), 二者联合应用时 BMP2 表达量降低 ($P < 0.05$)。见图 2。

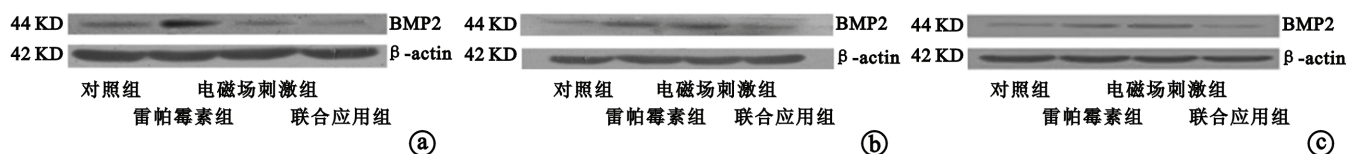
四、茜素红染色及钙结节沉积量

随机选取 10 个视野, 将图片用 Image-Pro Plus 图像分析软件分析。因干预 7 d 后无明显钙结节沉积, 故未予列出。干预 14 d 后, 雷帕霉素组、电磁场刺激组及联合应用组细胞外基质钙结节量明显多于对照组 ($P < 0.05$)。干预 21 d 后, 对照组也有少量钙结节, 但明显少于雷帕霉素组及电磁场刺激组 ($P < 0.05$)。干预 14 d 及 21 d 后, 雷帕霉素组钙结节沉积量均明显高于对照组、电磁场刺激组和联合应用组 ($P < 0.05$),

电磁场刺激组钙结节沉积量高于对照组及联合应用组 ($P < 0.05$), 联合应用组钙结节沉积量高于对照组 ($P < 0.05$)。见图 3-6。

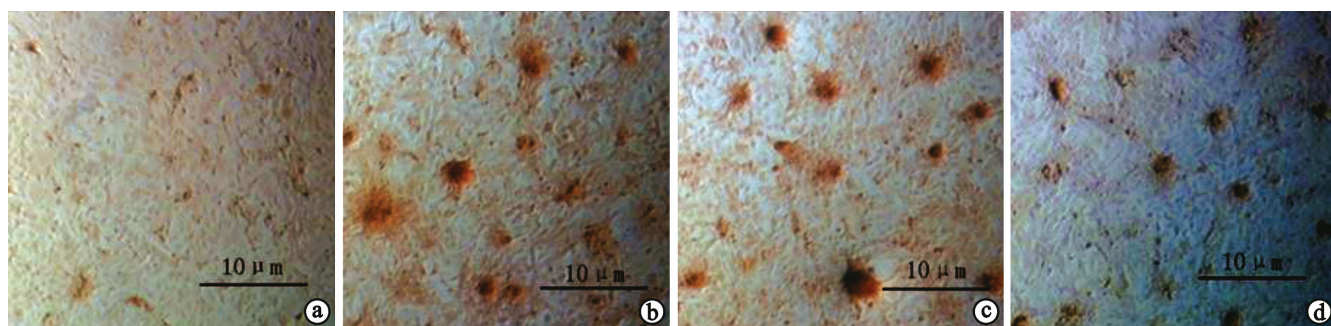
讨 论

雷帕霉素的应用范围较广, 其抑制免疫及延长哺乳动物寿命的相关功能已引起社会的广泛关注, 但其作为新型潜在促成骨药物发挥成骨效应的研究只停留在初步阶段^[3]。有研究报道^[4], 雷帕霉素不仅是一种新型促成骨药物, 还是 mTOR 通路的阻滞剂。Fitzsimmons 等^[5]证实雷帕霉素可通过拮抗 mTOR 通路, 进而激活 BMP-2/Smad 通路发挥作用。mTOR 通路依托于在细胞增殖和分化方面起关键作用的一种通道蛋白, 其可整合营养、能量、信号因子等多种细胞外信号, 参与基因转录、蛋白质翻译及核糖体合成等多项重要生命进程, 对细胞生长和凋亡具有重要作用^[6]。



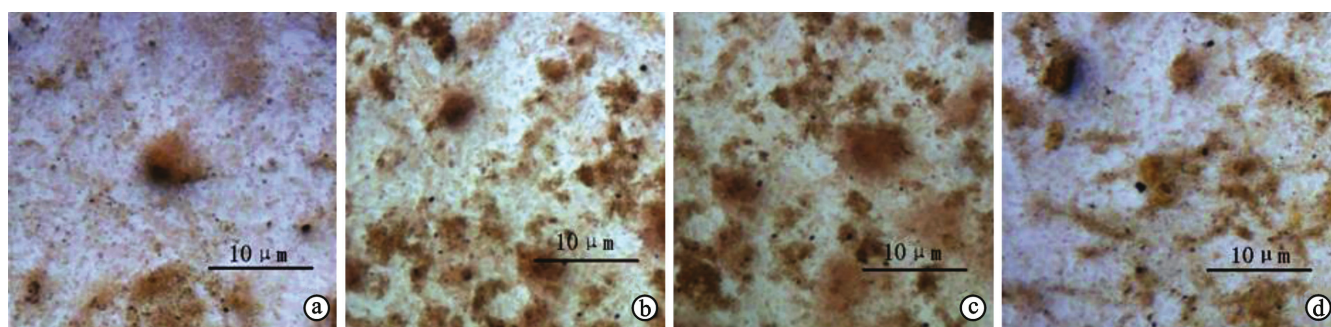
注: a 为干预 7 d 后各组的免疫印迹条带结果; b 为干预 14 d 后各组的免疫印迹条带结果; c 为干预 21 d 后各组的免疫印迹条带结果

图 2 不同时间各组 BMP-2 Western blot 免疫印迹检测结果比较



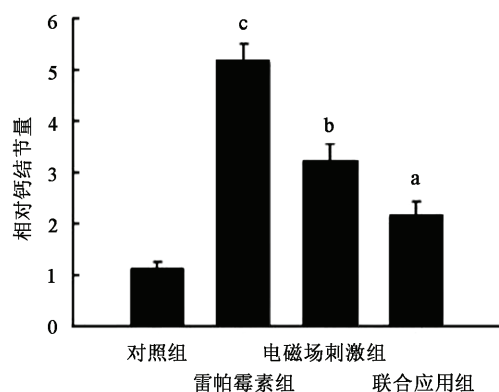
注: a 为对照组; b 为雷帕霉素组; c 为电磁场刺激组; d 为联合应用组

图 3 干预 14 d 后各组细胞茜素红染色结果 (×40)



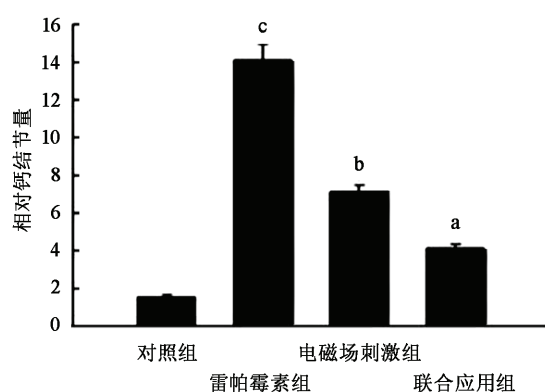
注: a 为对照组; b 为雷帕霉素组; c 为电磁场刺激组; d 为联合应用组

图 4 干预 21 d 后各组细胞茜素红染色结果 (×40)



注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与联合应用组比较,^b $P < 0.05$;与电磁场刺激组比较,^c $P < 0.05$

图5 干预 14 d 后各组细胞的钙结节沉积量



注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与联合应用组比较,^b $P < 0.05$;与电磁场刺激组比较,^c $P < 0.05$

图6 干预 21 d 后各组细胞的钙结节沉积量

应用电磁场刺激治疗骨折不愈合和骨折延迟愈合已有近百年历史,因其具有非侵入性、副作用小等优点而受到业界普遍认可。在大量实验及临床实践基础上,美国食品药品监督管理局(food and drug administration, FDA)批准将低频电磁场作为一种治疗手段应用于骨折不愈合和骨折延迟愈合,但其促成骨作用的机制仍在研究和探索中。刘朝旭等^[7-8]在观察频率为 15 Hz、强度为 1 mT 的电磁场对去卵巢大鼠骨质的影响后,发现低频电磁场对去卵巢大鼠有较好的抗骨质疏松效应,且对胫骨、腓骨骨折大鼠的愈合过程有促进作用。宋明宇等^[9]研究发现,15 Hz 的正弦波电磁场对诱导 BMSCs 成骨分化存在明显的时间窗口效应,随着暴磁天数的增加,每天进行短时间(1 h)暴磁可取得较好的诱导效果。

目前,有关电磁场和组织细胞间的效应关系仍未完全阐明。有研究报道^[10],这些效应可能是发生于细胞外的一种初始反应,其通过各种信号通路被传播和放大,这些生物效应在进行电磁场刺激的当天即可被检测到,提示可能发生了早期二级效应。通过本文结果可以看出,雷帕霉素早期具有明显的成骨效应,且其成骨效应与电磁场成骨效应的趋势一致,即随时间推移而不断加强。当电磁场与雷帕霉素联合应用时,其成骨效应差于单独应用雷帕霉素时的成骨效应,提示雷帕霉素与电磁场刺激联合应用时的成骨效应降低,这与本实验初始预估判断相反。Mozjerin 等^[11]证实 mTOR 通路可被电磁场激活,且在刺激后的数分钟内即可被激活。mTOR 通路由 mTOR 蛋白、下游目标底物 p70S6K 和下游核糖体蛋白 S6 共同组成,这些蛋白在受到电磁场刺激后的磷酸化量均显著增加,说明电磁场可在一定程度上影响 mTOR 信号通路。mTOR 通路可被电磁场激活,也可被 mTOR 通道阻滞剂雷帕霉素阻滞^[12],当应用雷帕霉素阻滞 mTOR 通路时,其成

骨效应增加,提示电磁场促成骨效应与 mTOR 通路并无直接关系,有可能与其它通路相关。电磁场与雷帕霉素联合应用时,雷帕霉素阻滞的 mTOR 通路被电磁场部分激活,所以推测电磁场刺激可能会降低雷帕霉素的 mTOR 阻滞效率。本课题因研究时间及实验条件限制,未进一步研究 mtor、p-mtor、6k 及 p-s6k 等相应信号通路蛋白与电磁场和雷帕霉素间的关系。

综上所述,单独应用雷帕霉素和电磁场刺激具有良好的促成骨效应,二者联合应用时,促成骨效应减弱。电磁场促成骨效应的机制与直接激活 mTOR 通路无关,而电磁场与雷帕霉素联合应用的促成骨效应低于单独应用雷帕霉素的促成骨效应,其机制可能与被雷帕霉素阻滞的 mTOR 通路有关。

参 考 文 献

- [1] Bassett CA, Pilla AA, Pawluk RJ. A non-operative salvage of surgically-resistant pseudarthroses and non-unions by pulsing electromagnetic fields. A preliminary report. Clin Orthop Relat Res, 1977, 124: 128-143.
- [2] Lee KW, Yook JY, Son MY, et al. Rapamycin promotes the osteoblastic differentiation of human embryonic stem cells by blocking the mTOR pathway and stimulating the BMP/Smad pathway. Stem Cells Dev, 2010, 19: 557-568.
- [3] Armstrong L, Hughes O, Yung S, et al. The role of PI3K/AKT, MAPK/ERK and NFkappabeta signalling in the maintenance of human embryonic stem cell pluripotency and viability highlighted by transcriptional profiling and functional analysis. Hum Mol Genet, 2006, 15: 1894-1913.
- [4] Kim K, Shin D, Kim KL, et al. Electromagnetic field enhancement in the gap between two Au nanoparticles; the size of hot site probed by surface-enhanced Raman scattering. Phys Chem Chem Phys, 2010, 12: 3747-3752.
- [5] Fitzsimmons RJ, Gordon SL, Kronberg J, et al. Kronberger et al. A pulsing electric field (PEF) increases human chondrocyte proliferation through a transduction pathway involving nitric oxide signaling. J Orthop Res, 2008, 26: 854-859.
- [6] Musarò A, McCullagh KJ, Naya FJ, et al. IGF-1 induces skeletal myo-

- cyte hypertrophy through calcineurin in association with GATA-2 and NF-ATc1. *Nature*, 1999, 400: 581-585.
- [7] 刘朝旭,虞冀哲,杨勇,等. 电磁场防治去卵巢小鼠骨质疏松的实验研究. *中华物理医学与康复杂志*, 2010, 32: 258-261.
- [8] 刘朝旭,吴华,杨勇,等. 脉冲电磁场对大鼠胫腓骨折愈合的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2010, 32: 173-177.
- [9] 宋明宇,杨勇,虞冀哲等. 不同作用时间下正弦波电磁场对大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化的效应. *中华物理医学与康复杂志*, 2012, 34: 426-430.
- [10] Zhang S, Liu H, Mu G. Electromagnetic enhancement by a single nano-groove in metallic substrate. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis*, 2010, 27: 1555-1560.
- [11] Mozjerin I, Gibson EA, Furlani EP, et al. Electromagnetic enhancement in lossy optical transition metamaterials. *Opt Lett*, 2010, 35: 3240-3242.
- [12] Ahn W, Boriskina SV, Hong Y, et al. Electromagnetic field enhancement and spectrum shaping through plasmonically integrated optical vortices. *Nano Lett*, 2012, 12: 219-227.

(修回日期: 2013-03-25)

(本文编辑: 凌 琛)

· 外刊摘英 ·

Preventing knee osteoarthritis

BACKGROUND AND OBJECTIVE Osteoarthritis (OA) of the knee is a widely prevalent phenomenon with no proven strategy to prevent its progression. Those with OA of one knee are at high risk for OA of the contralateral knee. This study was designed to determine whether those with OA in one knee have concurrent OA in the contralateral knee, and whether reducing the medial load in the affected knee reduces the damaging loading in the contralateral knee. **METHODS** Longitudinal data were obtained from the Framingham Osteoarthritis study. That study included weight-bearing anteroposterior knee radiographs obtained from subjects at baseline and, on average, 8.6 years later. From these data, 152 patients with radiographic medial OA were selected. For a second portion of the study, participants with knee pain were recruited for a trial testing of shoe inserts. These individuals underwent gait analysis involving footwear with no insoles, and then with lateral wedge insoles posted just proximal to the fifth metatarsal head at 5°. The primary outcome measure was external knee adduction moment (EKAM) of the ipsilateral and the contralateral knee. EKAM was used as a surrogate measure of medial loading, as higher values have been associated with an increased risk of developing knee OA. **RESULTS** Among the Framingham data, 14.5% had at least one knee with radiographic OA. The mean age of the subjects was 58.7 years. Of these patients, 90% either had, or later developed, medial OA of the contralateral knee. Gait analysis, with wedge use for the affected knees, revealed a significant reduction in EKAM. The contralateral limb also demonstrated significant reductions in early stance EKAM. **CONCLUSION** This study suggests that individuals with medial joint osteoarthritis of the knee can reduce the medial loading of both the ipsilateral and contralateral knee by using a wedge insole posted by 5°.

【摘自: Jones R, Chapman GJ, Findlow AH, et al. A new approach to prevention of knee osteoarthritis: reducing medial load in the contralateral knee. *J Rheum*, 2013, 40: 309-315.】

Muscle strength and performance in knee osteoarthritis

BACKGROUND AND OBJECTIVE Knee osteoarthritis (OA) is a leading cause of disability and deterioration in quality-of-life among community dwelling elderly individuals. Lifestyle modification, including regular exercise, is a first-line treatment for knee OA. This study compared factors associated with physical performance in a geriatric sample with radiographically severe knee OA. **METHODS** This study included community dwelling Korean individuals, 65 years of age or older. Data collected from the 533 participants included standing knee x-rays, anthropometric measures, Western Ontario McMaster University (WOMAC) index scores, isokinetic knee extension strength, data regarding depressive symptoms and physical performance data using the Short Physical Performance Battery (SPPB). Knee OA severity was divided into three groups, including no-or doubtful, minimal-to-moderate and severe. To identify the factors predicting poor physical performance, backward stepwise logistic regressions were performed in each radiographic knee OA severity group. **RESULTS** Physical performance differed significantly among the three knee OA severity groups in those with lower muscle strength, with those demonstrating more severe OA performing more poorly than those with less severe OA. However, in those with higher muscle strength, no significant differences in SPPB scores were found among the three OA severity groups. Among those identified with mild or moderate OA of the knee, variables associated with poor physical performance included muscle strength, knee pain, body mass index and age. Among those with severe OA, only muscle strength was significantly related to function. **CONCLUSION** This study indicates that patients with severe knee osteoarthritis who have good muscle strength do not show the decrease in physical performance usually seen in severe knee OA.

【摘自: Chun SW, Kim KE, Jang SN, et al. Muscle strength is the main associated factor of physical performance in older adults with knee osteoarthritis, regardless of radiographic severity. *Arch Geront Geriatr*, 2013, 56: 377-382.】