

参考文献

- [1] Selkoe DJ. Defining molecular targets to prevent Alzheimer disease[J]. Arch Neurol, 2005, 2(62):192—195.
- [2] Amar AP, Zlokovic BV, Apuzzo MLJ. Endovascular restorative neurosurgery: A novel concept for molecular and cellular therapy of the nervous system[J]. Neurosurgery, 2003, 52(2):402—413.
- [3] Modo M, Rezaie P, Heuschling P, et al. Transplantation of neural stem cells in a rat model of stroke: assessment of short-term graft survival and acute host immunological response [J]. Brain Research, 2002, 958(8):70—82.
- [4] Magavi SS, Leavitt BR, Macklis JD. Induction of neurogenesis in the neocortex of adult mice[J]. Nature, 2000, 405(6789):951—955.
- [5] Haughey NJ, Liu D, Nath A, et al. Disruption of neurogenesis in the subventricular zone of adult mice, and in human cortical neuronal precursor cells in culture, by amyloid beta-peptide: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. Neuromolecular Med, 2002, 1(2):125—135.
- [6] Haughey NJ, Nath A, Chan SL, et al. Disruption of neurogenesis by amyloid beta-peptide, and perturbed neural progenitor cell homeostasis, in models of Alzheimer's disease [J]. J Neurochem, 2002, 83(6):1509—1524.
- [7] Miguel A, Shelanski ML. Neurogenic effect of β -amyloid peptide in the development of neural stem cells[J]. J Neuroscience, 2004, 24(23):5439—5444.
- [8] Calza L, Giuliani A, Fernandez M, et al. Neural stem cells and cholinergic neurons: regulation by immunolesion and treatment with mitogens, retinoic acid, and nerve growth factor[J]. PNAS, 2003, 100(12):7325—7330.
- [9] Sugaya K, Brannen C. Stem cell strategies for neuroreplacement therapy in Alzheimer's disease [J]. Med Hypotheses, 2001, 57(6):697—700.
- [10] Cao Q, Benton RL, Whittemore SR. Stem cell repair of central nervous system injury [J]. J Neurosci Res, 2002, 68(5):501—510.
- [11] Shihabuddin LS, Homer PJ, Ray J, et al. Adult spinal cord stem cells generate neurons after transplantation in the adult dentate gyrus[J]. J Neurosci, 2000, 20(23):8727—8735.
- [12] Suhonen JO, Peterson DA, Ray J, et al. Differentiation of adult hippocampus derived progenitors into olfactory neurons in vivo[J]. Nature, 1996, 383(6601):624—627.
- [13] Tate BA, Werzanski D, Marciniack A, et al. Migration of neural stem cells to Alzheimer-like lesions in an animal model of AD[J]. Soc Neurosci Abstr, 2000, 26(2):496—497.
- [14] Kim HM, Qu T, Kriho V, et al. Reelin function in neural stem cell biology [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(6):4020—4025.
- [15] Qu T, Brannen C, Kim HM, et al. Human neural stem cells improve cognitive function of aged brain[J]. Neuroreport, 2001, 12(6):1127—1132.
- [16] Gray J, Grigoryan G, Virley D, et al. Conditionally immortalized, multipotential and multifunctional neural stem cell lines as an approach to clinical transplantation [J]. Cell Transplant, 2000, 9(2):153—168.
- [17] Wu P, Tarasenko Y, Gu Y, et al. Region-specific generation of cholinergic neurons from fetal human neural stem cells grafted in adult rat[J]. Nat Neurosci, 2002, 5(12):1271—1278.
- [18] Vescovi AL, Parati EA, Gritti A, et al. Isolation and cloning of multipotential stem cells from the embryonic human CNS and establishment of transplantable human neural stem cell lines by epigenetic stimulation [J]. Exp Neurol, 1999, 156(1):71—83.
- [19] Gvetchen V. Rat brains respond to embryonic stem cells[J]. Science, 2002, 295(5553):254—255.
- [20] Philips MF, Mattiasson G, Mieloch T, et al. Neuroprotective and behavioral efficacy of nerve growth factor transfected hippocampal progenitor cell transplants after experimental traumatic brain injury[J]. J Neurosurg, 2001, 94(5):765—774.

· 综述 ·

力学因素在构建组织工程化软骨中的应用*

吴 华¹ 吴纪饶¹ 王曼莹²

由于关节软骨的缺损及病变严重影响患者的生存质量,而且关节软骨自身修复能力很差,因此,寻找关节软骨组织的修复方法就成为实验室和临床上攻克的难题。近年来,随着组织工程学技术的发展,开展体外构建组织工程化软骨的研究越来越被人们所重视。组织化工程软骨(engineered cartilage)构建的基本过程大体上可分为两步:第一步是将体外扩增培养的种子细胞黏附于一种生物相容性和可塑性良好,并在体内能降解吸收的生物材料上,在这种三维结构的复合体中,细胞能生长成为正常软骨细胞所具有的表型、功能并形成预制的形状;第二步是将组织工程化软骨植入病损部位,逐步达到修复各种形状的缺损和重建关节软骨目的。可是研究发现,体外培养的工程软骨,虽然能在形态、生化表象上成功仿制天然的软骨,但在力学特性与天然软骨相比存在较大差距^[1]。例如,工程化软骨的压缩刚度不如在体内皮下培养的软骨,而体内皮下培养软骨的压缩刚度仍低于天然关节软骨的 48.7%^[2]。多数学者认为,天然关节软骨所特有的力学性能可能与其生长在体内微动力环境下并不断受到功能负荷、肌肉牵张力等刺激分不开,而传统的体外培养条件却不能满足这样需求。由此,利用上述组织化工程软骨进行修复,其疗效

和功能及耐用性都受到极大的挑战,而如何在体外培养条件下,优化组织工程化软骨的性能成为亟待解决的问题。

1 软骨组织生物力学特性

关节软骨表现出一些独特的力学性质,它是一种各向异性、非均匀、粘弹性、充满液体的可渗透物质^[3],能抵抗一定拉力、剪切力、压力及耐受磨损,这主要由材料的多相结构决定,即是由材料各种成分的性质、分布及相互作用来决定。关节软骨是一种双相性的材料,即一个多孔的、有通透性的、且由纤维增强的固体相和一个自由流动的液体相组成,其成分主要是软骨细胞外基质(extracellular matrix, ECM)包含胶原纤维(Ⅱ型胶原占 90%—95%)、蛋白多糖(proteoglycan, PG),小分子的糖蛋白(glycoprotein, GP)等固体相和由主要是水组成的液体相^[4]。

* 基金项目:省重点实验室开放基金资助项目

1 海南师范大学体育系,

2 江西师范大学生命科学学院

作者简介:吴华,女,硕士,助教

收稿日期:2005-10-08

胶原纤维在软骨的不同层面排列形成不同结构, 具有很强的拉伸性能; 蛋白多糖为一种极端亲水发粘的凝胶分子, 它主要以聚合素 (aggrecan) 形式存在, 即由核心蛋白及糖胺多糖 (glycosaminoglycan, GAG) 组成 PG 单体, 再与透明质酸非共价结合, 如硫酸软骨素 4、6 及硫酸角蛋白。蛋白多糖凝胶分散在胶原纤维网之间, 本身不具有抗压作用, 但由于蛋白多糖有很强的吸水膨胀性, 加上 GAG 上经常有固定负电荷互相排斥, 使它有充分扩展倾向, 而这个倾向却被周围的胶原纤维网约束了, 最终两者达到压力平衡, 使软骨内部在未受外力时就存在一个约 0.35MPa 的膨胀压^[4] (渗透压)。当外力大于膨胀压时, 引起液体外流, 蛋白多糖浓度增加, 渗透压增大以对抗外压力, 同时将压力传递给胶原纤维, 使压应力转化为张应力。因此, 外界因素如异常应力导致蛋白多糖、胶原的减少、破坏或微细结构的改变等, 都会引起关节软骨力学性能的变化。

2 力学刺激的应用

在体外培养具有更佳生物学活性和力学性能的组织工程化软骨, 应考虑到尽量在体外模拟软骨细胞在体内的生长环境, 给予软骨细胞一定的力学刺激。于是, 学者们相继建立了许多细胞培养模型来研究力学刺激对构建软骨的结构、代谢等影响, 但研究的结论会因取材部位、培养方式和施加载荷形式、大小、频率的不同而不一致。较常选用的载荷形式包括静态压力、动态压力、流体静压力、剪切力等。

2.1 压力

压力是关节最常承受的负载, 可以将其看成是由一系列随时间变化的动态成分和随时间缓慢发展的静态成分组成^[5], 因而体外研究实验多采用的压力方式有两种: 一种是持续静压力 (static compression), 另一种为动态压力 (dynamic compression)。

静压力多为早期研究所关注的加载方式, 它的施加使组织保持持续恒定的压缩状态, 但普遍发现基质的合成将受到抑制^[6-8]。近年的研究对于静压力的作用效果有更进一步理解, Quinn 等^[9]认为静压力使培养基内可溶物质运输受限, 而导致软骨细胞代谢水平下降, Ragan 等^[10]发现 40h 持续静压力只是促使新合成的 aggrecan 分子流失到培养基中, 并不伴随 aggrecan 分子的大小、成分的改变, 认为静压力不引起细胞代谢途径的变化。总之, 众多学者认同持续静压力对软骨细胞的影响主要是负面。

由于在日常活动中, 膝关节主要受到的是动态压力, 它在一定程度上会影响软骨细胞新陈代谢^[11]。研究发现, 循环动态压力的作用与对软骨细胞自身所处的位置有关, 如不同深度软骨细胞 (表层、中层、深层)^[12]或同层不同区域 (表层高载荷区、低载荷区) 的软骨细胞^[13], 受压后形态、功能的改变都不同。可见, 分析动态压力对工程化软骨的影响是非常复杂的, 不仅会因样本的生化、力学特性的差异, 以及压力装置不同、培养系统的不同导致对样本的压缩加载和应变不同^[14], 而且由于组织受到动态压力可以产生多种物理现象, 包括静水流压力 (hydrostatic pressure)、毛细液流 (fluid flow)、流能 (streaming potential)、电流 (current) 变化等, 区分这些因素对整

块组织的影响很难, 因为它们之间是相互联系的。后来研究者发现施加动态压力时, 形变、压力、毛细液流等的分布会因在组织中的位置不同而有差异, 并且差异程度与动态压力的频率高度相关, 说明可以利用力和流体在空间的自然分布, 去评价相对较主要、具体的力学刺激对工程化软骨的影响。如在采用对两个不渗透圆盘中的样本, 施加单轴非限定性压缩 (uniaxial unconfined compression)^[5, 15-16], Kim 等^[15]发现在 0.1Hz 时, 样本半径周边部分毛细液流、流能梯度最高, 压力最低, 而在中心位置则相反, 在此频率下的刺激, 优先促进了半径周边的软骨细胞合成反应, 说明此时力学刺激对调控软骨细胞代谢反应更可能与毛细液流、流能、细胞形变有关。而在低频 0.001—0.01Hz 时, 这种位置的差别就不明显, 样本全层各部位出现一致的合成增强, 可能与四种作用比较协同有关。Davisson 等^[14]对在两个多孔渗水圆盘中样本, 施加单轴限定性压缩 (uniaxial confined compression) 这种装置的构造使样本在半径方向上受到的一些物理刺激 (如张力、静水流压力、压力) 一致, 而仅在轴向上不同。然后, 采用 ³⁵SO₄ 和 ³H-proline 标记技术, 定量研究静态、动态压力对种植在 (PGA) 无纺网上的软骨细胞硫酸软骨素 (S-GAG) 和相关蛋白代谢的影响, 他们发现静压力在 50% 的应变幅度时, S-GAG 和相关蛋白的沉积分别减少 60% 和 50%, 而动态压力的作用取决于压力大小、频率和实验设计等, 通常在频率不高于 0.001Hz 时的动态振动 (dynamic oscillations) 对 ECM 的合成没作用, 而高于 0.01Hz 频率的动态振动, 相比静压力能增加 10%—30% 的 ECM 合成^[14]。但众多研究证实, 如能考虑到构建工程化软骨本身采用的支架结构特点^[17], 对复合物施加生理负荷水平的应力, 将取得良好效果, 比如增加每个活细胞 PG 的平均合成量, 改善了增加复合物刚度、平衡模量 (equilibrium modulus), 减小渗透性^[18], 另外, 利用动态压力还可使复合物能对抗 IL-1 β 介导的炎症反应, 干预关节炎的发生发展^[18-19]。这也体现了我们选用生理负荷的运动, 有助于关节炎软骨细胞形态及超微结构的恢复^[12]。

2.2 静水流压力 (hydrostatic pressure)

静水流压力也是一个被许多学者所关注的作用形式, 也有称其为生理液态压力。研究者认为固态基质在生理条件下具有不可压缩性, 故生理活动时对软骨细胞影响最大的力是生理液态压力^[20]。由于一般人关节表面受到的压力范围为 2.96—9.86MPa^[21], 行走时人膝关节受到压力约为 5MPa^[22]。实验中选用的间歇性静水流压力 (intermittent hydrostatic pressure) 负荷一般低于或近似于生理水平 (1—10MPa), 将不会引起细胞形变^[23-24], 并能提高软骨细胞 aggrecan 和 II 胶原的 mRNA 的表达水平^[23-26], 对基质的合成、积累有重要作用, 当然也应考虑加载负荷持续时间、频率的差异, 选择适宜的组合适宜的安排是优化治疗关节炎所需^[27]; 而超过生理范围的持续高静水流压力 (continuous high hydrostatic pressure) 则会改变细胞骨架结构、破坏高尔基体^[28], 导致正常的软骨细胞向关节炎样细胞变化^[29]。

2.3 剪切力

由于关节软骨不仅承受、传导压力而且能减小关节面间的摩擦, 它受到复杂的载荷包括压力和剪切力^[30]。剪切形变对

于一个均匀的多孔弹性组织,产生极小的体积变化,由此组织内毛细血流、压力梯度也小到可以忽略^[31]。Waldman 等^[30]选用小幅度的剪切力(1%—3%应变),先将软骨细胞种植在生物陶瓷支架中,让其自由生长 4 周后,再施加间歇性剪切力作用 4 周,结果发现 8 周后的样本对比未加力组,无论从厚度、脱水重量、压缩模量、平衡模量还是蛋白多糖、胶原量都显著增加,这可能与剪切力作用改变了 ECM 超微结构有关,有待进一步研究;另外,他又采取类似方法对比长时间动态压力和剪切力对该复合物的影响,结果发现在同一湿重情况下,剪切力组复合物比动态压力组含更多基质,说明周期性负荷的长时间作用,有助于提高工程化软骨体外培养的品质,但其成分、力学性能的改变与施加的负荷模式有关,而剪切力相对动态压力效果更佳^[32]。

2.4 离心力

离心力的施加主要是利用复合物在离心机内高速旋转,从而对复合物产生离心力,该办法不要求特殊设备,较为简单。杨志明等^[33]通过离心机成功构建出接近正常关节软骨的形态和功能的离心管软骨后,孔清泉等^[34]进一步探讨离心力在构建工程化软骨中所起的作用,他们将软骨细胞种植在脱细胞软骨基质材料上,并移入离心管中培养,每天取出离心管置于离心机上离心 3 次,每次离心时间 20min(转速:1000r/min,旋转半径:12mm),相对离心力约为 200g,复合物培养至 8 周后与静态培养组比较发现,离心力的作用主要是能刺激软骨细胞分泌 GAG 和 II 型胶原增加,并使该类软骨组织具有一定层次排列结构,而静态培养的类软骨组织排列较为紊乱。

3 力学载荷作用的机制

究竟为什么力学载荷能影响体外构建软骨的功能,它的作用机理又是什么,对于这些问题至今仍没有明确的答案,也是学者们探讨的焦点。以往的研究发现,静压力作用于软骨组织将压缩基质,使其负电荷浓度增加,吸引许多带正电荷的离子(如 H^+ 、 K^+ 、 Na^+)集中,导致组织内的 pH 值下降、渗透压增加,这些将抑制 PG 的合成以及减弱 aggrecan 与透明质酸的结合。组织受压后,同样还将导致基质孔径减小,阻碍了营养物质、废物、生长因子及新合成的基质大分子的转运^[4],学者还认为是基质压缩或渗透压的改变影响了软骨细胞的形态,继而细胞的代谢发生变化。

Kim^[5]提出静压力抑制合成机制可能不是前体、营养、废物转运受阻碍,因为当细胞撤去静压力恢复到其自由溶胀(free-swelling)水平时,观察软骨细胞合成作用的恢复和表型,发现 aggrecan 合成恢复较连结蛋白(link protein)慢,透明质酸的合成几乎不受静压力的影响,说明静压力对软骨细胞的影响不是全面抑制或促进细胞的活动,而仅是改变几个特殊的代谢途径。Parkkinen^[23]的实验中发现对软骨细胞起抑制作用的短时间(1.5h)循环静流水压力,当其加载时间延长至 20h 反而促进了硫酸盐结合(sulfate incorporation),揭示循环静水压力影响蛋白多糖的合成量取决促进与抑制软骨细胞的几个代谢步骤的平衡。而且由于完成 aggrecan 的合成需 1.5—2h,包括核心蛋白的翻译、从粗面内质网到高尔基复合体的

转运化 70—90min,然后是 GAG 链的延长、硫酸盐结合、分泌共大约 15min。所以在 1.5h 的负载时间中,改变发生在翻译或后翻译阶段(post-translational processing),而 20h 的作用可以改变基因的表达。

以上的观点虽不一致,但都关注 ECM 这个媒介,力学信号通过 ECM 传导给软骨细胞,细胞-ECM 间的相互作用不容忽视。许多的实验中也发现,当在施加负载前细胞外有更多的 ECM,则复合物对负载的反应效果强于细胞周围只有少量的 ECM 或仅是软骨细胞^[14,16]。近年来,认为 ECM 受到的力学刺激可能通过结合细胞膜上整合素(integrins)受体来转导信号到细胞内,再通过细胞骨架的传递将信息传入细胞核,来改变某些基因的表达。通过 ECM-整合素-细胞骨架这个网络系统,细胞一旦受到机械力刺激即可迅速发生反应,把机械能转化为细胞内化学能^[35]。

4 生物反应器的运用

尽管在软组织工程中,运用机械、流体力学等刺激方式来改善体外培养的环境,提高工程化软骨的生物学性能,但这些单一或组合的载荷形式都难达到组织内高密度的细胞量及稳定的高分化度,而这对于缺损部位有效的修复、重建都十分重要。例如在标准重力环境中,尽管细胞可在网状支架上黏附,所建立的三维培养体系由于重力的作用,细胞在支架上分布不均匀,往往集中在支架靠近下面的一侧,这样营养物质供给不均,阻碍组织特异性分化,组织容易丧失其特征和发生去分化,形成的聚集出现中央坏死,影响组织块的质量。

生物反应器最初为在生产上监控微生物或哺乳动物细胞培养环境、条件(如温度、氧浓度、营养供应)而建立的,尔后针对培养特异的各种工程化组织进行不断改良^[36]。随反应器在组织工程中的应用,不但避免了传统培养方式存在的弊端,改进了模拟体内环境的装置,而且也使今后大规模、程序化生产组织工程化产品用于临床治疗成为可能。组织工程用生物反应器大致可以分为 4 种:①机械搅拌式生物反应器,②灌注式生物反应器,③流体循环式生物反应器,④转壁式生物反应器(rotating wall vessel bioreactor, RWVB)、旋转细胞培养系统(rotating cell culture system, RCCS)。机械搅拌式生物反应器内培养能使组织工程细胞或复合体新陈代谢的各种参数维持在正常生理范围内,并可使组织工程细胞或复合体内细胞培养密度增加,并有利于外部供氧,利于保持细胞的天然形态。虽然它简单实用、费用较低,但机械搅拌产生过大的剪应力会对细胞造成不利影响。灌注式生物反应器是将种植了细胞的支架悬吊于灌注系统中,培养液以恒定流量被泵送到反应器中,再连续地收集到反应器废液瓶中。灌注式反应器克服了机械混合产生的剪切应力,可以对细胞的周围环境如 pH 值、温度、营养、代谢产物更为精确的监控,因而培养细胞的密度及质量可以得到很大提高。流体循环式生物反应器可为所培养的某些组织工程细胞或复合体提供流体力学刺激,使得 DNA 合成和总蛋白产物合成增加从而实现细胞的增殖。

具有跨时代意义是 RWVB 的设计,1992 年美国 NASA

为在地面上模拟微重力条件下细胞的生长而开发的一种新型细胞及组织培养装置^[7],其核心结构是由两个同心圆柱体构成的旋转培养装置。将细胞与培养液置入内、外圆柱体之间,整个装置绕纵轴旋转,再根据细胞或培养物的大小调节容器的旋转速度,使旋转产生的离心力刚好和细胞与微载体或支架复合物的重力平衡,无须固定支架即可使之悬浮于培养液中随反应器旋转^[38]。由于在旋转过程中正常的重力向量被持续随机化,使细胞处于一种模拟自由落体状态,在一定程度上类似于微重力环境,又称为微重力反应器^[39]。由于该系统无推进器、空气升液器、气泡或搅拌器,因此,几乎没有破坏性的剪切力,而且营养物质供给均匀,使得大细胞团得以形成,细胞表型充分表达,RCCS 是近年最新改进的旋转生物反应器。这些改良的反应器在工程化软骨领域的应用,能进一步改善工程化软骨质量、提高产量,为今后工程化软骨的临床应用推广奠定基础。

5 小结

模拟正常体内的力学环境对于构建工程化软骨的起到非常重要的作用。利用动态压力、循环静水流压力、剪切力、离心力都能提供不错的力学刺激,尤其是旋转生物反应器的设计更加优化了培养环境,提高了工程化软骨的质量。虽然力学因素的作用机制还不十分明确,微重力组织工程研究还存在许多难题,但随着科技发展和研究深入,难题将逐步解决,加之相应的法规和标准的制定、完善,工程化软骨有望成为临床上修复、重建关节软骨缺损极有效的治疗方法和手段。

参考文献

- [1] Mauck RL, Soltz MA, Wang CC, et al. Functional tissue engineering of articular cartilage through dynamic loading of chondrocyte-seeded agarose gels [J]. *J Biomech Eng*, 2000, 122(3): 252—260.
- [2] 王跃, 杨志明, 解慧琪, 等. 组织工程化软骨的应力-应变研究[J]. *生物医学工程学杂志*, 2001, 18(2): 181—184.
- [3] 朱翠玲. 现代生物医学工程 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1992. 10—15.
- [4] 王以进, 王介麟. 骨科生物力学 [M]. 北京: 人民军医出版社, 1989. 209—220.
- [5] Kim YJ, Sah RL, Grodzinsky A. Mechanical regulation of cartilage biosynthetic behavior: physical stimuli [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1994, 311(1): 1—12.
- [6] Burton-Wurster N, Vernier-Singer M, Farguher T. Effect of compressive loading and unloading on the synthesis of total protein, proteoglycan, and fibronectin by canine cartilage explants [J]. *J Orthop Res*, 1993, 11(5): 717—729.
- [7] Guilak F, Meyer BC, Ratcliffe A. The effects of matrix compression on proteoglycan metabolism in articular cartilage explants [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 1994, 2(2): 91—101.
- [8] Gray M, Pizzanelli A, Grodzinsky A. Mechanical and physiochemical determinants of the chondrocyte biosynthetic response [J]. *J Orthop Res*, 1988, 6(6): 777—792.
- [9] Quinn TM, Studer C, Grodzinsky AJ, et al. Preservation and analysis of nonequilibrium solute concentration distributions within mechanically compressed cartilage explants [J]. *J Biochem Biophys Methods*, 2002, 52(2): 83—95.
- [10] Ragan PM, Chin VI, Hung HH, et al. Chondrocyte extracellular matrix synthesis and turnover are influenced by static compression in a new alginate disk culture system [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2000, 383(2): 256—264.
- [11] Lee DA, Noguchi T, Frean SP, et al. The influence of mechanical loading on isolated chondrocytes seeded in agarose constructs [J]. *Biorheology*, 2000, 37(1-2): 149—161.
- [12] Wu JZ, Herzog W. Analysis of the mechanical behavior of chondrocytes in unconfined compression tests for cyclic loading [J]. *J Biomech*, 2006, 39(4): 603—616.
- [13] Wiseman M, Henson F, Lee DA, et al. Dynamic compressive strain inhibits nitric oxide synthesis by equine chondrocytes isolated from different areas of the cartilage surface [J]. *Equine Vet J*, 2003, 35(5): 451—456.
- [14] Davisson T, Kunig S, Chen A. Static and dynamic compression modulate matrix metabolism in tissue engineered cartilage [J]. *J Orthop Res*, 2002, 20(4): 842—848.
- [15] Kisiday JD, Jin M, DiMicco MA. Effects of dynamic compressive loading on chondrocyte biosynthesis in self-assembling peptide scaffolds [J]. *Biomechanics*, 2004, 37(5): 595—604.
- [16] Démarteau O, Wendt D, Braccini A. Dynamic compression of cartilage constructs engineered from expanded human articular chondrocytes [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003, 310(2): 580—588.
- [17] Hunter CJ, Mouw JK, Levenston ME. Dynamic compression of chondrocyte-seeded fibrin gels: effects on matrix accumulation and mechanical stiffness [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2004, 12(2): 117—130.
- [18] Chowdhury TT, Bader DL, Lee DA. Dynamic compression counteracts IL-1 beta-induced release of nitric oxide and PGE2 by superficial zone chondrocytes cultured in agarose constructs [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2003, 11(9): 688—696.
- [19] Chowdhury TT, Bader DL, Lee DA. Anti-inflammatory effects of IL-4 and dynamic compression in IL-1 beta stimulated chondrocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 339(1): 241—247.
- [20] Bachrach NM, Mow VC, Guilak F. Incompressibility of the solid matrix of articular cartilage under high hydrostatic pressures [J]. *J Biomech*, 1998, 31(5): 445—451.
- [21] Mow VC, Ratcliffe A, Poole AR. Cartilage and diarthrodial joints as paradigms for hierarchical materials and structures [J]. *Biomaterials*, 1992, 13(2): 67—97.
- [22] Parkkinen JJ, Ikonen J, Lammi MJ. Effects of cyclic hydrostatic pressure on proteoglycan synthesis in cultured chondrocytes and articular cartilage explants [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1993, 300(1): 458—465.
- [23] Toyoda T, Seedhom BB, Yao JQ, et al. Hydrostatic pressure modulates proteoglycan metabolism in chondrocytes seeded in agarose [J]. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(10): 2865—2872.
- [24] Toyoda T, Seedhom BB, Kirkham J, et al. Upregulation of aggrecan and type II collagen mRNA expression in bovine chondrocytes by the application of hydrostatic pressure [J]. *Biorheology*, 2003, 40(1-3): 79—85.
- [25] Ikenoue T, Trindade MC, Lee MS, et al. Mechanoregulation of human articular chondrocyte aggrecan and type II collagen expression by intermittent hydrostatic pressure in vitro [J]. *Orthop Res*, 2003, 21(1): 110—116.
- [26] Mizuno S, Tateishi T, Ushida T, et al. Hydrostatic fluid pressure enhances matrix synthesis and accumulation by bovine chondrocytes in three-dimensional culture [J]. *J Cell Physiol*, 2002, 193(3): 319—327.
- [27] Smith RL, Lin J, Trindade MC, et al. Time-dependent effects of intermittent hydrostatic pressure on articular chondrocyte type II collagen and aggrecan mRNA expression [J]. *J Rehabil Res Dev*, 2000, 37(2): 153—161.
- [28] Jortikka MO, Parkkinen JJ, Inkienen RI, et al. The role of microtubules in the regulation of proteoglycan synthesis in chondrocytes under hydrostatic pressure [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2000, 374(2): 172—180.
- [29] Fioravanti A, Benetti D, Coppola G, et al. Effect of continuous high hydrostatic pressure on the morphology and cytoskeleton of normal and osteoarthritic human chondrocytes cultivated in alginate gels [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2005, 23(6): 847—853.
- [30] Waldman SD, Spiteri CG, Grynbas MD. Long-term intermittent shear deformation improves the quality of cartilaginous tissue

- formed in vitro[J]. J Orthop Res, 2003, 21 (4):590—596.
- [31] Frank EH, Jin M, Loening AM. A versatile shear and compression apparatus for mechanical stimulation of tissue culture explants[J]. J Biomechanics, 2000, 33(11):1523—1527.
- [32] Waldman SD, Spiteri CG, Grynblas MD, et al. Effect of biomechanical conditioning on cartilaginous tissue formation in vitro[J]. J Bone Joint Surg Am, 2003, 85(2):101—105.
- [33] 杨志明, 王跃, 解慧琪, 等. 应用无支架离心管培养技术构建组织工程化关节软骨[J]. 中华骨科杂志, 2000, 9(20):521—524.
- [34] 孔清泉, 杨志明, 项舟, 离心力在体外构建组织工程软骨中的作用[J]. 中华实验外科杂志, 2005, 22(3):281—283.
- [35] 李彬, 张西正, 张永亮, 等. 骨组织工程中的应力与生长[J]. 国外医学·生物医学工程分册, 2003, 26(3):129—134.
- [36] Portner R, Nagel-Heyer S, Goepfert C. Bioreactor design for tissue engineering [J]. J Bioscience and Bioengineering, 2005, 100(3):235—245.
- [37] Hammond TG, Hammond JM. Optimized suspension culture: the rotating wall vessel [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2001, 281(1):12—25.
- [38] Klaus DM. Clinostats and bioreactors [J]. Gravity Space Biol Bull, 2001, 14(2):55—64.
- [39] Nickerson CA, OTT CM, Wilson JW. Microbial responses to microgravity and other low-shear environments[J]. Microbiology and Molecular Biology Rev, 2004, 68(2):345—361.

· 综述 ·

有氧运动的运动量-效应关系: 运动科学的角度分析

郑德采¹

现代化程度的增长也致使很多疾病迅猛地增长, 例如心血管系统疾病、代谢性疾病、肿瘤、骨骼系统疾病等^[1]。在这些疾病的运动能力的恢复中, 康复医学起了很重要的作用^[2], 运动疗法涵盖的内容非常多, 如针对神经系统疾病的神经促通技术等, 特别是有氧运动, 这种运动对心肺代谢功能是有益的, 但不同运动量所产生的效果也不一样。那么, 两者的运动量和效应关系(以下简称量-效关系)如何呢^[3]? 本文就目前研究进展做一综述, 以进一步明确其研究动向, 为康复运动处方的量化提供科学依据。

1 有氧运动和运动量-效应关系的概念

运动疗法是运动在医学中的应用, 是以运动科学、生物力学和神经发育学为基础, 以达到改善躯体、生理、心理和精神的功能障碍为主要目标, 以作用力和反作用力为主要因子的一种治疗方法^[4]。有氧运动是指人体在氧气供应充足的情况下的长时间、中低强度的耐力运动。人体在长时间有规律的有氧运动之后会改善血流量、增加氧气的供应、增加脂肪的消耗、改善心血管的功能、增强肺功能等。随着障碍学的发展和神经生理学的研究深入, 运动疗法已经形成了针对某种疾患进行康复治疗的独立体系。研究表明不同运动水平(量)与某种健康参数(如危险因素、疾病、生活质量等)之间存在着某种特定的联系, 这种联系如同医药模式中用药剂量与疾病治疗效果之间的特定关系一样^[5]。医生可以根据这种关系开出最有效的用药处方, 而康复医学工作者也可根据运动的这种量-效关系(dose-response)制订出安全有效的运动处方, 以便提高身体素质, 最终达到预防和治疗疾病的目的。

2 有氧运动的类型和运动的量与效

2.1 有氧运动的类型

有氧运动是一种增强人体吸收、输送和使用氧气为目的的耐力运动。在整个运动过程中, 人体消耗和吸收的氧气差不多, 特点是低强度、有节奏、持续时间长, 并且方便易行、容易坚持。运动的方式有很多, 如步态训练行走、跑步机、踏车

运动、水中康复、肢体功能锻炼等。

在康复科患者的治疗中, 有氧运动起了很重要的作用, 有氧运动能够全面提高身体素质, 心肺功能和肌肉耐力, 促进机体各组织器官的协调作用, 使人体机能达到最佳状态。而且有氧运动强度相对较小, 不易疲劳, 能够持续较长时间。

2.2 运动量在治疗中的研究

在运动科学的描述中, “量”(dose)即运动量, 为运动强度与运动时间、频度的乘积, 是此三要素的综合效应。其中运动强度则是运动处方量化与科学化的核心问题, 是取得锻炼效果的关键。因此, 评价运动量其重点在于强度指标的确定。为了更科学地描述运动量指标, Edward(2001)^[6]把运动归纳为休闲时间的身体活动、工作中的身体活动和抗阻力训练三种不同的身体活动方式。对于休闲时间的身体活动而言, 有耗氧量(L/min)、总卡路里消耗量(kCal)和代谢当量(METs)等绝对强度指标以及最大摄氧量百分比(%VO₂max)、摄氧储备百分比(%VO₂R)、心率储备百分比(%HRR)、最大心率百分比(%HRmax)和 Borg 的主观用力程度指数(RPE)等相对强度指标; 对于工作中的身体活动而言, 由于其时间恒定为 8 小时/天, 且强度不同, 故活动量较难确定, 目前尚无统一的标准; 而抗阻力练习运动量的指标不同于有氧运动, 其运动量和运动强度取决于 1RM 的百分比(%1RM)、每组的重复次数、组数及组间间隔时间。

目前, 在疾病的量-效关系的研究中, 主要关注每周总热量消耗量(kCal/周)这一指标。因此, 为了准确了解某种特定的量-效关系, 能量消耗的测定方法应具备较高的有效性和可靠性。Michael 等(2001)^[7]总结了能量消耗的测量方法: 直接法有双标水法、活动监视装置法(motion detectors)和身体活动记录表法(PA records, logs, and recalls); 间接法有摄氧量测定法(VO₂)、心率测定法(HR)、体温测定法、肺通气量测

1 广东省中医院康复中心, 广州, 510120

作者简介: 郑德采, 男, 住院医师

收稿日期: 2005-03-22