

低频脉冲电磁场对骨骼相关疾病的生物学效应研究进展

李天乐 卢倩 苗辉 仝昕 于世宾

摘要 作为一种非药物治疗法,脉冲电磁场(pulsed electromagnetic field, PEMF)具有无创伤、无感染、操作简单、费用低廉、可长期应用、安全性好等优势。近年来大量研究表明,适宜的 PEMF 能够通过多种信号通路对骨骼起到保护的作用,从而治疗骨质疏松、骨折延期愈合、股骨头坏死等骨骼相关疾病。本文试对这一领域的相关研究进行综述。

关键词 脉冲电磁场 骨骼 骨折 骨质疏松症 骨组织工程

中图分类号 R681

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.07.002

2021 年世界卫生组织的报告显示,肌肉骨骼疾病是导致人类残疾的主要原因,这类疾病常伴有不同程度的疼痛和活动受限,这不仅严重影响患者自身的生活质量,还会给整个社会带来沉重的负担。目前骨骼相关疾病治疗方法主要包括手术和药物治疗,而对于自身愈合能力较差的患者,尤其是最常发生骨骼疾病的老年人来说,手术这一侵入式的疗法有时会给患者造成额外的伤害,例如伤口感染或延迟不愈等。相比手术治疗,药物也存在给患者带来不良反应的风险。

脉冲电磁场(pulsed electromagnetic field, PEMF)的概念最早是由美国矫形外科专家 Bassett 提出的,低频 PEMF 是指频率 1~100Hz,峰值磁场 <10mT 的低频、低强度磁场,其作用原理是采用高能抗谐振低频变化 PEMF 改变人体生物电、改善生物场,从而达到治疗的目的。具有不同参数(如频率、波形、幅度)的 PEMF 可以引起机体骨组织不同的生物反应,达到不同的治疗效果^[1-3]。早在 20 世纪 70 年代 PEMF 就已经被美国 FDA 批准用于临床治疗并取得了不错的疗效。因此,探究 PEMF 对骨骼相关疾病的治疗现状,对临床上患者的诊治和更深层次的相关研究开展具有重要意义。本文试对低频 PEMF 在骨骼相关疾

病的研究进展和可能的分子机制进行综述。

一、低频脉冲电磁场在骨相关疾病治疗中的作用

1. 骨折延迟愈合和骨不连:骨折延迟愈合是指骨折在正常愈合所需的时间(一般为 4 个月)内仍未达到骨折完全愈合标准的现象,骨不连则是指骨折发生后 9 个月仍然没有愈合的现象,二者都是骨折治疗过程中的严重并发症。针对这类并发症,临床上多需采用二次手术的方式促进骨骼愈合,但二次手术不仅难以保证治疗效果,还有可能给患者带来较大的伤害。有研究对 45 例胫骨骨折后合并萎缩性骨不连、局部感染的患者给予 PEMF 刺激(0.008Wb/m²,每天 12h,6~12 周),结果发现 PEMF 能够促使约 35%(16 例)的骨不连在 10 周内愈合,85%(38 例)的骨不连在 4 个月内愈合,临床疗效显著^[4]。2020 年 Peng 等^[5]围绕 PEMF 刺激对患者骨折愈合效应的 Meta 分析结果显示,PEMF 刺激可以显著加快骨折愈合速度,有效缓解骨折相关的疼痛。在一项双盲随机试验中有研究者尝试利用 PEMF 对第五跖骨骨不连进行辅助治疗,结果发现伴随着局部胎盘生长因子、脑源性神经营养因子、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP) - 5 和 BMP - 7 等水平的显著升高,PEMF 可以使愈合时间从 14.7 周缩短到 8.9 周^[6]。以上结果均显示,PEMF 疗法能够显著改善骨折延迟愈合甚至不愈合的情况,在临床上具有重要的推广意义。

2. 股骨头坏死:股骨头坏死(osteonecrosis of the femoral head, ONFH)是指股骨头血供中断或受损,引起骨细胞、骨髓成分死亡及随后的修复,继而导致股骨头结构改变、股骨头塌陷、关节功能障碍的疾病,是骨科领域常见的难治性疾病,常表现出疼痛、关节活

基金项目:国家自然科学基金资助项目(面上项目)(81970953);陕西省重点研发计划一般项目(2021SF-046);军事口腔医学国家重点实验室自主研究课题(2018ZB02)

作者单位:710032 西安,军事口腔医学国家重点实验室、口腔疾病国家临床医学研究中心、陕西省口腔疾病国际联合研究中心、第四军医大学口腔医院解剖生理学教研室

通信作者:于世宾,教授,博士生导师,电子信箱:yushibin@fmmu.edu.cn

动和负重行走功能障碍等临床症状。ONFH 可分为创伤性和非创伤性两大类,前者主要是由股骨颈骨折、髌关节脱位等髌部外伤引起,后者在我国的主要原因为皮质类固醇的应用及酗酒^[7]。Massari 等^[8]对 66 例患者的 76 侧坏死股骨头进行了 PEMF 治疗(2.0 ± 0.5mV、75Hz,每天 8h,平均治疗周期为 5 ± 2 个月),结果显示,PEMF 可以在 ONFH 的早期阶段(Ficat I 期和 II 期)保留髌关节或显著推迟手术时间,而且 PEMF 治疗 60 天后 53% 的患者疼痛消失,26% 的患者疼痛显著缓解。在通过关节腔注射 10μg/kg 脂多糖和 20mg/kg 甲基泼尼松龙建立的大鼠 ONFH 动物模型中,给予 PEMF 治疗(0 ~ 20Gy、15Hz,每天 4h,治疗周期为 1 ~ 8 周),结果 PEMF 治疗组的 ONFH 发生率(29%)远低于实验组(75%),且与实验组比较,PEMF 治疗组的血脂水平显著降低,转化生长因子(transforming growth factor, TGF) - β1 mRNA 和蛋白水平显著升高^[9]。与之类似,在同样的大鼠 ONFH 模型中,PEMF 治疗(1.2mT、15Hz,每天 4h,治疗周期为 8 周)能够抑制股骨头中的成脂相关因子过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator - activated receptor, PPAR) - γ2 表达,上调成骨相关因子 Runx2 表达,促进成脂与成骨之间的平衡,并将 ONFH 的发生率从 69% 降至 31%^[10]。以上结果提示,适宜的 PEMF 能够在一定程度上防治 ONFH,显著缓解其临床症状,降低手术需求。

3. 骨质疏松:骨质疏松是由于多种原因导致的骨密度和骨质量下降,骨微结构破坏,造成骨脆性增加,从而容易发生骨折的全身性骨病。夏新蜀等^[11]和陈江强等^[12]临床研究发现,PEMF 能够明显缓解骨质疏松引发的患者慢性疼痛,是临床上骨质疏松的有效物理治疗方法,且无不良反应发生。2020 年,Liu 等^[13]利用鼠尾悬吊法建立大鼠废用性骨质疏松模型,结果发现,PEMF 治疗(3.82mT、10Hz,每天 40min)2 周、4 周时疗效不及阿仑膦酸盐,但治疗 8 周时 PEMF 在改善骨超微结构参数、力学指数方面的功效与阿仑膦酸盐相当,且 PEMF 组血清中 BMP-2 与血清骨钙素的增长明显超过阿仑膦酸盐组,这提示 PEMF 能比阿仑膦酸钠更温和、更持久地改善骨结构的力学稳定性。2021 年,Androjna 等^[14]通过卵巢切除构建骨质疏松大鼠模型,并给予 PEMF 治疗(10T/s、30T/s、100T/s、300T/s、3850Hz 脉冲频率,15Hz 重复率,每天 3h,治疗周期为 6 周),结果显示 30T/s 的 PEMF 治疗就可以达到阿仑膦酸盐拮抗松质骨骨量丢失的相当疗效,

而且 PEMF 治疗不会像阿仑膦酸盐那样降低骨形成率;30T/s 和 100T/s 的 PEMF 治疗还可以促进皮质骨骨陷窝 - 微管形态的改建。2021 年 Qian 等^[15]通过卵巢切除构建了兔骨质疏松模型,并给予 PEMF 治疗(15Hz,每天 40min,每周 5 天,治疗周期为 8 周),结果显示,与骨质疏松组比较,PEMF 治疗组的椎体骨矿物密度上调 20.3%,从而使椎弓根螺钉的抗拔出力量上调 14.0%,该结果提示 PEMF 能够显著地提高骨密度。综上所述,适宜的 PEMF 刺激能够有效逆转骨丢失,改善骨骼机械强度,预防骨质疏松。

二、低频 PEMF 在骨组织工程中的作用

骨骼在正常情况下具有较强的自愈能力,但在骨缺损体积过大时就需要借助骨组织工程来解决骨缺损修复的难题。生物材料能够为机体提供一个促进愈合和再生的框架,成骨相关细胞与生物材料框架的良好结合、交互在骨组织工程中发挥着关键的作用。有研究将成骨细胞分别接种于普通细胞培养皿和磷酸钙材料表面,给予 15Hz、每天 8h 的 PEMF 刺激,结果显示,PEMF 能够显著上调磷酸钙材料表面成骨细胞的 OPG 分泌,这提示 PEMF 具有材料表面依赖性促成骨效应^[16]。有研究报道,0.96mT、15Hz 的 PEMF 刺激能够显著增加培养在钛表面成骨细胞的细胞黏附,诱导细胞产生更多伪足,使成骨细胞沿主轴排列,并促进成骨细胞的矿化^[17]。与此类似,Jing 等^[18]也发现 2mT、15Hz 的 PEMF 刺激不仅能够增强多孔钛表面的成骨细胞附着和增殖,在体外诱导成骨细胞在多孔钛表面形成组织良好的细胞骨架,还能显著促进兔骨缺损的修复。以上研究结果显示,适宜的 PEMF 能够有效促进骨细胞与组织工程材料的结合并有效促进相应的成骨效应,PEMF 有望进一步完善并促进骨组织工程的应用与发展。

三、低频 PEMF 参与骨修复的可能机制

目前尽管低频 PEMF 对骨修复的作用已经越来越被人们所熟知,但其具体机制尚未被完全阐明。现有研究中报道的低频 PEMF 参与骨修复的可能机制主要包括初级纤毛 - PI₃K/Akt 信号通路、BMP 信号通路、可溶性腺苷酸环化酶(soluble adenylyl cyclases, sAC) - 环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP) - 蛋白激酶 A(protein kinase A, PKA) - 环磷酸腺苷效应元件结合蛋白(cAMP - response element binding protein, CREB)信号通路、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路、Wnt - Ca²⁺/Wnt - β - catenin 信号通路等^[19-26]。

1. 初级纤毛 - PI₃K/Akt 信号通路:初级纤毛是一种存在于大多数哺乳动物细胞表面、以微管为基础结构的特殊细胞器,其来源于细胞的母中心粒,锚定在细胞膜并如“天线”般突出细胞表面。作为细胞感受器,初级纤毛从环境中接受各种信号,转导至细胞内引起细胞反应。PI₃K/Akt 信号转导途径具有调控物质代谢、基因表达、增殖等多种生物学功能,成骨细胞的矿化成熟过程离不开 PI₃K/Akt 信号途径的参与。2019年,任茜等利用 50Hz、0.6mT 的 PEMF 刺激来源于大鼠颅骨的成骨细胞,结果发现成骨细胞的初级纤毛变长,细胞中的 PI₃K、Akt 蛋白水平显著升高,并伴有成骨标志物碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)活性和成骨相关基因 BMP-2、COL-1、OSX 的表达水平升高;通过 RNAi 方法干扰初级纤毛发生后,PEMF 刺激无法上调成骨细胞中 PI₃K 的蛋白表达水平,同时 ALP 活性和 BMP-2、COL-1、OSX 的表达水平不再上调,PEMF 增加钙化结节形成能力的作用也消失;加入 PI₃K 阻断剂 LY294002 阻断 PI₃K/Akt 信号途径后,PEMF 刺激也不再能提高成骨细胞中 ALP 活性和 BMP-2、COL-1、OSX 的表达^[19]。

2. BMP 相关信号通路:BMP 属于 TGF-β 族,是体内诱导骨和软骨形成的主要因子,对骨骼的胚胎发育和再生修复起重要作用。BMP 主要通过 Smad1/5/8 和 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38MAPK)的激活来发挥其成骨分化诱导剂的作用。Xie 等^[20]研究发现,0.6mT、50Hz 的 PEMF 刺激可以通过上调初级纤毛上的 BMP II 型受体的表达来激活 BMP-Smad1/5/8 信号通路,从而促进大鼠成骨细胞的成骨分化和成熟;通过 RNAi 的方法敲低成骨细胞中 BMP II 型受体的表达可以显著降低 PEMF 刺激对成骨分化和成熟的促进作用。Martini 等^[21]研究发现,1.5mT、75Hz 的 PEMF 刺激可以显著提高人骨髓间充质干细胞成骨分化过程中成骨转录因子 DLX5、RUNX2 以及骨分化标志物 ALP、OC 的表达,以及 BMP 下游的 Smad1/5/8 和 p38MAPK 的活化;在细胞培养体系中加入 BMP 信号抑制剂多索吗啡和 p38MAPK 选择性抑制剂 SB203580 可以显著逆转 PEMF 刺激对上述成骨相关因子的上调作用及 hMSCs 的成骨分化潜能。

3. sAC-cAMP-PKA-CREB 信号通路:cAMP-PKA 信号系统可以调节成骨细胞的分化和矿化,从而成骨。在鼠尾悬吊法建立大鼠废用性骨质疏松模型中,PEMF 治疗(0.6mT、50Hz,每天 90min,治疗周

期为 4 周)在显著提高大鼠股骨、椎骨骨矿物密度、改善骨超微结构的同时,可以维持血清中的 cAMP 水平以及股骨中的磷酸化 PKA、CREB 和 sAC 的水平^[22]。2019 年 Wang 等^[23]给予 3 周龄大鼠为期 2 个月每天 90min、50Hz、0.6mT 的 PEMF 刺激,结果大鼠血清中 I 型前胶原氨基端原肽显著增高,同时大鼠颅骨成骨细胞中 sAC、cAMP 的表达水平,PKA 和 CREB 的磷酸化水平,以及磷酸化 CREB 的核内转移显著上调;加入 sAC 特异性抑制剂 KH7 或者 PKA 抑制剂 KT5720 可以显著逆转 PEMF 的促成骨作用。以上研究表明,sAC-cAMP-PKA-CREB 信号通路在 PEMF 刺激成骨细胞分化和矿化的过程中起着重要作用。

4. mTOR 信号通路:mTOR 信号通路是调控细胞生长和增殖的关键途径,对细胞的生长、增殖、存活、凋亡等起到十分重要的作用。在骨重建过程中类胰岛素生长因子-1(insulin-like growth factors-1, IGF-1)可通过激活 mTOR 促进间充质干细胞的成骨分化。2018 年 Ferroni 等^[24]研究发现,PEMF 能够显著提高间充质干细胞中 ALP、BMP2、Runx 等成骨标志物,以及 AKT、MAPK 激酶和 RAGA 等 mTOR 通路相关蛋白的表达;且 mTOR 通路抑制剂雷帕霉素可以降低 PEMF 的成骨性能。2019 年 Miyamoto 等^[25]也证实持续的 PEMF 刺激(0.4mT、10Hz,每天 8h)可引起 mTOR 通路的短暂磷酸化,而间歇性 PEMF(0.4mT、10Hz,每天 3 次,每次 10min,间隔 20min)刺激可使磷酸化降低的 mTOR 通路恢复活力。以上结果均表明,MTOR 通路的激活可能是 PEMF 刺激成骨分化所必需的。

5. Wnt-Ca²⁺/Wnt-β-catenin 信号通路:Wnt 是一种分泌型糖蛋白,其与细胞膜上的 Frizzled/FZD 和低密度脂蛋白受体相关蛋白 6(low density lipoprotein receptor-related protein 4, LRP6)共受体结合后,可使 β-catenin 从多蛋白复合物中解离,启动 LEF/TCF 反应元件和基因的转录,从而参与成骨过程。2018 年 Wu 等^[26]研究发现,PEMF 刺激(每天 2h、30Hz、1mT、治疗周期为 10 天)能显著上调 C3H10T1/2 间充质干细胞中 Wnt-1、β-catenin、磷酸化 LRP6、ALP、OSX 和 Runx2 的表达,以及细胞内 Ca²⁺ 的水平 and β-catenin 从细胞质向细胞核内的转位活动;钙螯合剂 BAPTA-AM 处理或在无钙环境中培养可以部分降低细胞内 COL-1、Runx2 等成骨分化相关基因的表达,并明显减弱基质形成与矿化。以上结果表

明, Wnt - Ca^{2+} / Wnt - β - catenin 信号通路可能是参与 PEMF 成骨作用的重要通路之一。

四、展 望

作为一种有前景的、无创的、安全的物理治疗方法, PEMF 对骨骼相关疾病治疗的积极作用及其可能的机制已经引起了广大研究者的关注。然而, 在相关疾病防治中 PEMF 的最佳参数及其关键分子信号通路尚不明确。今后需要从高质量的临床研究和基础实验中获得更可靠的证据, 进一步明确其最佳治疗参数及具体机制, 为未来骨骼相关疾病的治疗提供科学依据。

参考文献

- Zhu S, He H, Zhang C, *et al.* Effects of pulsed electromagnetic fields on postmenopausal osteoporosis [J]. *Bioelectromagnetics*, 2017, 38(6): 406 - 424
- 刘仲华. 社区骨质疏松防治适宜技术应用[J]. *医学研究杂志*, 2011, 40(4): 146 - 148
- 马原军, 于世宾. 电磁脉冲在骨关节炎治疗中的作用机制研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2021, 50(5): 15 - 19, 168
- Gupta AK, Srivastava P, Avasthi S. Pulsed electromagnetic stimulation in nonunion of tibial diaphyseal fractures [J]. *Indian J Orthop*, 2009, 43(2): 156 - 160
- Peng LH, Fu CY, Xiong F, *et al.* Effectiveness of pulsed electromagnetic fields on bone healing: a systematic review and meta - analysis of randomized controlled trials [J]. *Bioelectromagnetics*, 2020, 41(5): 323 - 337
- Streit A, Watson BC, Granata JD, *et al.* Effect on clinical outcome and growth factor synthesis with adjunctive use of pulsed electromagnetic fields for fifth metatarsal nonunion fracture: a double - blind randomized study [J]. *Foot Ankle Int*, 2016, 37(9): 919 - 923
- 李时斌, 赖渝, 周毅, 等. 激素性股骨头坏死发病机制及相关信号通路的靶点效应 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(6): 935 - 941
- Massari L, Fini M, Cadossi R, *et al.* Biophysical stimulation with pulsed electromagnetic fields in osteonecrosis of the femoral head [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2006, 88(Suppl3): 56 - 60
- Ding S, Peng H, Fang HS, *et al.* Pulsed electromagnetic fields stimulation prevents steroid - induced osteonecrosis in rats [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2011, 12: 215
- Li JP, Chen S, Peng H, *et al.* Pulsed electromagnetic fields protect the balance between adipogenesis and osteogenesis on steroid - induced osteonecrosis of femoral head at the pre - collapse stage in rats [J]. *Bioelectromagnetics*, 2014, 35: 170 - 180
- 夏新蜀, 李小宏, 林海丹. 低频脉冲电磁场治疗骨质疏松疼痛的临床研究 [J]. *激光杂志*, 2014, 35(1): 54 - 55
- 陈江强. 低频脉冲电磁场治疗高龄骨关节疼痛效果研究 [J]. *全科医学临床与教育*, 2014, 12(5): 527 - 530
- Liu S, Bi J, Zhang Y, *et al.* Preliminary study on the electromagnetic field treatment of osteoporosis in rats [J]. *Technol Health Care*, 2020, 28(S1): 47 - 55
- Androjna C, Yee CS, White CR, *et al.* A comparison of alendronate to varying magnitude PEMF in mitigating bone loss and altering bone remodeling in skeletally mature osteoporotic rats [J]. *Bone*, 2021, 143: 115761
- Qian G, Wang M, Dong Y, *et al.* Effect of combined treatment with pulsed electromagnetic field stimulation and sclerostin monoclonal antibody on changes in bone metabolism and pedicle screw augmentation in rabbits with ovariectomy - induced osteoporosis [J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(2): 1070 - 1078
- Schwartz Z, Fisher M, Lohmann CH, *et al.* Osteoprotegerin (OPG) production by cells in the osteoblast lineage is regulated by pulsed electromagnetic fields in cultures grown on calcium phosphate substrates [J]. *Ann Biomed Eng*, 2009, 37(3): 437 - 444
- Wang J, An Y, Li F, *et al.* The effects of pulsed electromagnetic field on the functions of osteoblasts on implant surfaces with different topographies [J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(2): 975 - 985
- Jing D, Zhai M, Tong S, *et al.* Pulsed electromagnetic fields promote osteogenesis and osseointegration of porous titanium implants in bone defect repair through a Wnt/ β - catenin signaling - associated mechanism [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 32045
- 任茜, 周建, 王鸣刚, 等. 脉冲电磁场促进成骨细胞成熟分化依赖于初级纤毛 - PI₃K/AKT 途径 [J]. *北京大学学报: 医学版*, 2019, 51(2): 245 - 251
- Xie YF, Shi WG, Zhou J, *et al.* Pulsed electromagnetic fields stimulate osteogenic differentiation and maturation of osteoblasts by upregulating the expression of BMPR II localized at the base of primary cilium [J]. *Bone*, 2016, 93: 22 - 32
- Martini F, Pellati A, Mazzoni E, *et al.* Bone morphogenetic protein - 2 signaling in the osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells induced by pulsed electromagnetic fields [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(6): 2104
- Li WY, Li XY, Tian YH, *et al.* Pulsed electromagnetic fields prevented the decrease of bone formation in hindlimb - suspended rats by activating sAC/cAMP/PKA/CREB signaling pathway [J]. *Bioelectromagnetics*, 2018, 39(8): 569 - 584
- Wang YY, Pu XY, Shi WG, *et al.* Pulsed electromagnetic fields promote bone formation by activating the sAC - cAMP - PKA - CREB signaling pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(3): 2807 - 2821
- Feroni L, Gardin C, Dolkart O, *et al.* Pulsed electromagnetic fields increase osteogenic commitment of MSCs via the mTOR pathway in TNF - α mediated inflammatory conditions: an in - vitro study [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 5108
- Miyamoto H, Sawaji Y, Iwaki T, *et al.* Intermittent pulsed electromagnetic field stimulation activates the mTOR pathway and stimulates the proliferation of osteoblast - like cells [J]. *Bioelectromagnetics*, 2019, 40(6): 412 - 421
- Wu S, Yu Q, Lai A, *et al.* Pulsed electromagnetic field induces Ca^{2+} - dependent osteoblastogenesis in C3H10T1/2 mesenchymal cells through the Wnt - Ca^{2+} / Wnt - β - catenin signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(2): 715 - 721

(收稿日期: 2021 - 12 - 28)

(修回日期: 2022 - 01 - 10)