

机械应力对成骨细胞影响的研究进展

郭来威, 许田恩, 孟会强, 滕元君, 夏亚一

兰州大学第二医院骨科/甘肃省骨关节疾病研究重点实验室, 甘肃 兰州 730000

【摘要】成骨细胞是参与骨的生长、重建和修复的关键细胞, 机械应力刺激对成骨细胞发育、增殖和修复起着十分重要的作用。通过对体外培养的成骨细胞施加不同的机械应力刺激(力的加载方式、大小、频率、时间等), 研究成骨细胞在细胞、分子、基因水平上产生的生物学效应, 为细胞生物力学实验技术、临床疾病的诊疗以及组织工程学的研究和发展提供指导意义。就近年来对体外培养成骨细胞施加机械应力的加载方式, 以及不同应力刺激对成骨细胞的影响进行综述。

【关键词】成骨细胞; 机械应力; 应力模式; 生物学效应

【中图分类号】R35

【文献标识码】A

【文章编号】1005-202X(2015)06-0785-05

Effects of mechanical stress on osteoblasts

GUO Lai-wei, XU Tian-en, MENG Hui-qiang, TENG Yuan-jun, XIA Ya-yi

Gansu Key Laboratory of Osteoarticular Diseases, Department of Orthopaedics, Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective Osteoblasts are significant for the growth, reconstruction and repair of bone. And mechanical stress plays an important role in the development, proliferation and repair of osteoblasts. Different kinds of mechanical stresses have different stress patterns, levels, frequencies, loading time and so on. The biological effects of osteoblasts at cellular, molecular and genetic levels were studied by applying different kinds of mechanical stresses on osteoblasts in vitro, which would provide guidance significance for the research and development of biomechanics experiment, tissue engineering and the diagnosis and treatment of clinical diseases. The different patterns of mechanical stresses on osteoblasts in vitro and effects of mechanical stimulation on osteoblasts in recent years were reviewed in this paper.

Key words: osteoblast; mechanical stress; stress model; biological effect

前言

成骨细胞是参与骨生成、生长、修复与代谢的关键细胞, 成骨细胞具有产生胶原纤维和无定形基质, 分泌骨钙蛋白、骨粘连蛋白, 促进骨组织的钙化, 分泌细胞因子, 调节骨组织的形成与吸收等多种生理功能。同时成骨细胞又是重要的感受和效应细胞, 研究表明, 机械应力可以刺激成骨细胞, 介导成骨细胞增殖与分化, 因此成骨细胞缺乏机械应力刺激时, 其

细胞功能及生物学特性将受到影响, 进而导致机体产生相应的病理症状, 如长期卧床的患者及航天飞行员均可导致骨质疏松的发生^[1-2]。体外培养的成骨细胞, 在不同的机械应力加载方式、大小、时间及频率作用下, 将会产生不同的生物学效应。本文根据目前的研究进展和相关学说, 就各种机械应力刺激对成骨细胞的影响进行综述。

1 作用于成骨细胞的机械应力加载方式

人体骨骼系统主要是为肌肉提供附着及活动时提供稳定的支架, 时刻都在承担着肌肉活动所形成的反复载荷, 在生理状态下, 体内成骨细胞所处的应力环境是多样、复杂且偶联的, 体外培养成骨细胞对不同的机械应力加载方式必然有不同响应, 使用单

【收稿日期】2015-06-20

【基金项目】国家自然科学基金(81450042, 81071478); 兰州市科技计划项目(2014-2-27)

【作者简介】郭来威(1990-), 研究生, 主要研究方向: 关节外科。Tel: 18993047185; E-mail: guolw09@163.com。

【通信作者】夏亚一(1966-), 医学博士, 主任医师, 教授, 博导, 主要研究方向: 骨关节外科。E-mail: xiayayi@126.Com。

纯一种应力加载方式简化成骨细胞受力环境, 以研究其在应力加载环境下细胞功能及信号转导的机制。目前机械应力加载方式主要有压应力模式、张应力模式、剪切应力模式、离心力模式、微移液管刺激模式及电磁力刺激模式等。

1.1 压应力模式

静压力模型是较早受到关注的应力加载方式, 它对骨组织或细胞施于恒定压力。研究表明, 对成骨细胞施加压应力刺激能够影响成骨细胞合成代谢并在骨折愈合过程中起到重要作用^[3-4]。但单纯静压力不足以模拟成骨细胞在生理状况下承受的压力载荷。人体在不同体位、重力及运动状态下, 骨组织和细胞会受到持续不规则的力学刺激, 因此动态压力对成骨细胞功能可能更有意义, 但动态压力对骨组织和细胞的作用相当复杂, 不同加载装置、生化特性、培养系统等都可能造成成骨细胞受到的压缩载荷和应变差异, 而且可能产生毛细液流、电流变化等各种物理混杂因素^[5]。所以如何设计一种新型压应力加载模型以减少实验干扰因素并尽可能多的符合机体生理情况下的应力刺激状况, 是今后仍需努力的方向。

1.2 张应力模式

生理状态下, 机体成骨细胞分泌骨基质并钙化包裹成骨细胞, 应力刺激则通过骨基质形变将应力传导给成骨细胞骨架。体外培养成骨细胞的牵张应力加载方式^[6]目前主要是通过拉伸黏附有成骨细胞的培养基膜的方法(图1), 通过对培养基膜施加牵张应力, 使黏附在培养基膜上的成骨细胞被动牵拉, 从而模拟体内成骨细胞的受力情况。该方式通过控制应力的加载方式、大小、时间等, 可以观察不同条件下成骨细胞对牵张应力的不同响应, 操作相对简便, 重复性较好。由于培养基膜在受到牵张应力时各区域所受到的应力不均, 基膜中间区域受到的牵张应力相对较小; 而成骨细胞所受的应力刺激依赖于培养基膜, 从而导致不同区域的成骨细胞受到的应力刺激不同; 而且体外培养基膜的应变会明显大于骨基质, 在单轴牵拉时, 牵拉轴的垂直方向可对细胞产生一定的收缩压力; 若培养基膜屈曲形变过大, 还可能产生流体剪切应力, 增加实验干扰因素。有研究将成骨细胞铺展厚度由边缘到最大处从零开始变化^[7], 这使细胞随基膜拉伸时, 其内部所受的应变可能更均匀一致。目前通过硅胶、生物高分子材料作基膜、钛合金作支架以及实验装置及原理的改进, 成骨细

胞所受的牵张应力刺激也逐渐接近体内细胞受力环境。

1.3 剪切应力模式

人体正常骨组织包括骨松质和骨皮质, 骨松质内被骨陷窝、骨小管及骨小梁填充成网状支架构成三维网状通路, 间隙液填充其中, 形成骨组织内流动液体, 进而产生流体剪切应力, 进一步可刺激成骨细胞发生各种生物力学特性的改变。体外对成骨细胞施加流体剪切力的模式目前主要有锥板流动室及平行平板流动室: 锥板流动室的工作原理是由锥体旋转产生动力引起的液体流动, 进而形成作用于成骨细胞的剪切应力; 平行平板流动室的原理是利用不同高度差的静水压力提供恒定的剪切力或者使用激活泵提供瞬态剪切力, 使模型进出口两端产生压力差, 为流体剪切力的施加提供直接动力, 对贴附在玻片上的成骨细胞产生均匀或脉动的剪切应力。研究者设计了一套平行平板流动加载装置(图2)^[8], 目前这种应力加载装置应用相对广泛。利用体外流体剪切力加载模型刺激成骨细胞, 通过调整应力大小及作用时间, 观察不同变量作用下成骨细胞的响应。有研究表明, 对成骨细胞施加中等大小流体剪切应力(12 dyn/cm^2) 30 min~60 min可有效刺激成骨细胞增值, 是对成骨细胞最适宜的刺激; 施加较高的剪切应力(18 dyn/cm^2) 则反而抑制成骨细胞增殖^[9]。成骨细胞对流体剪切应力反应具有一定的敏感性和适应性, 即表现出时间依赖性和强度依赖性。

1.4 其它应力刺激模式

将细胞与载体形成的复合物置于离心机内旋转, 利用对复合物产生离心力的效果, 达到给成骨细胞施加离心应力刺激的目的。Lee 等^[10]将成骨细胞培养在离心机中, 并予以施加间断性离心力刺激, 发现离心力可刺激成骨细胞增殖, 但可能因为离心时成骨细胞所处的离心半径不同会导致细胞所受到的离心力不同, 所以离心力加载模式的应用可能仍存在一定的局限性。Sato 等^[11]发现使用微移液管对单个成骨细胞进行机械刺激, 但刺激方向与细胞长轴的夹角不同时, 对成骨细胞产生的效应不同, 目前对该应力加载模式的应用相对较少。另外电磁力也是一种重要的应力加载方式, 目前研究较多的有脉冲电磁场(Pulsed Electromagnetic Fields, PEMFs)和正弦交变电磁场(Sinusoidal Electromagnetic Fields, SEMFs)。研究表明, PEMFs可以通过NO合成介导成骨细胞的增殖与分化^[12]; Zhou 等^[13]发现 50 Hz 的

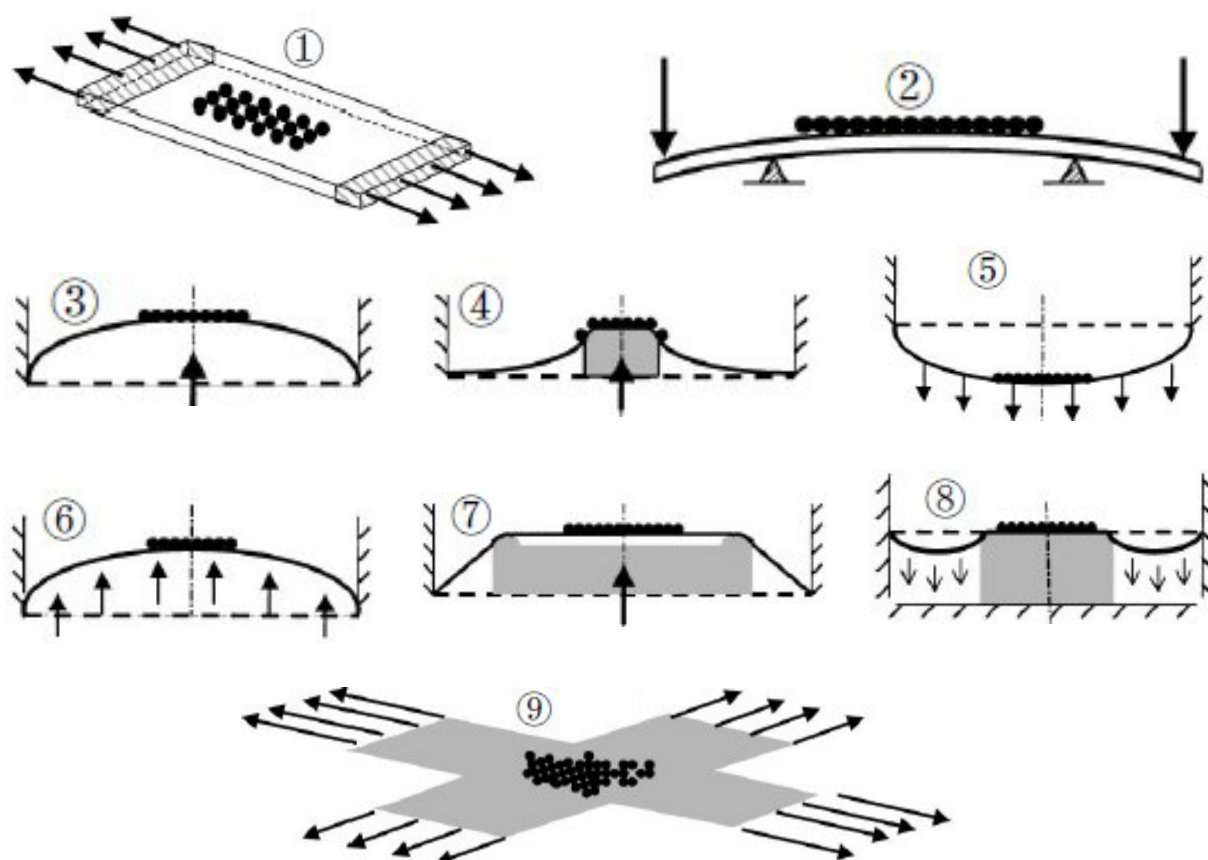


图1 不同张应力方式

Fig.1 Different stress methods

Note: ① Uniaxial stress; ② Flexure; ③ Curvilinear displacement by kinematic conformity with a curved platen; ④ Substrate tenting by a centrally contacting prong; ⑤ Substrate displacement by an applied vacuum (Flexercell); ⑥ Substrate displacement by positive fluid displacement; ⑦ Concurrent radial and circumferential strain input by motion of a frictionless platen; ⑧ Retro-fit of the Flexercell system, achieving radial and circumferential substrate strains by a fixed central stage; ⑨ Bi-directional substrate traction

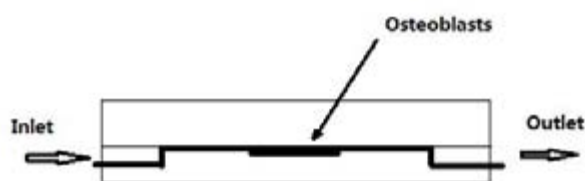


图2 流体剪切力加载装置

Fig.2 Fluid shear stress device

SEMFs可以抑制成骨细胞增殖,显著促进成骨细胞分化与钙化。

2 机械应力刺激对成骨细胞的生物学效应

机械应力作用于成骨细胞,会刺激成骨细胞产生各种生物学效应:促进成骨细胞增殖和分化、改变成骨细胞形态、影响成骨细胞功能、调节成骨细胞代谢及细胞因子水平等。熟悉各种机械应力刺激的加载方式,研究应力对成骨细胞在细胞及分子水平的

作用机制,对生物医学研究发展及临床疾病的诊疗都具有重要的意义。

2.1 对成骨细胞增殖的影响

在一定条件下,不同机械应力加载方式均可不同程度地促进成骨细胞的增殖,影响成骨细胞的功能活动,体外机械应力加载的方式、大小、频率及时间决定了对成骨细胞产生何种生物效应。Rath等^[14]发现对成骨细胞施加10%的压应力($11.8 \text{ kPa} \pm 0.42 \text{ kPa}$)刺激可促进成骨细胞增殖,加快骨折愈合。王海明等^[9]发现中等大小流体剪切应力作用30 min~60 min可刺激成骨细胞增殖,而较高的剪切应力则抑制成骨细胞增殖。一般认为,周期性应力刺激对成骨细胞增殖分化功能的影响大于持续性应力刺激的影响。董海涛等^[15]通过研究发现周期性流体剪切力(cFSS)可通过ERK5活化刺激成骨细胞显著增殖。Winter等^[16]用周期性和持续性牵张力刺激成骨细胞,使成骨细胞内DNA和 Ca^{+} 含量均较对照组增高,且周期性牵张

力更为显著。可见成骨细胞对机械应力刺激进行精准调节, 适宜强度、时间和频率的应力刺激才可有效促进成骨细胞增殖。

2.2 对成骨细胞 ALP、胶原及蛋白的影响

不同机械应力刺激通过成骨细胞微管将机械信号转导入胞内, 引起成骨细胞信号转导级联反应, 从而影响成骨细胞各种酶及蛋白合成。碱性磷酸酶 (ALP) 是成骨细胞增殖和分化的标志, 是在成骨细胞活化后, 新生骨质钙化时产生^[17], 可反映成骨细胞在合成 I 型胶原 (Colla I) 及形成骨基质方面的能力。Kaspar 等^[18]发现生理范围内的周期性张应力刺激 (30 min/d、1 Hz、1000 微应变) 可导致成骨细胞内 ALP 活性下调约 9%~25%。流体剪切力可通过细胞外信号调节激酶 (ERK) 信号通路刺激成骨细胞 ALP 合成增加, 促进 DNA 合成, 进而调控成骨细胞增殖和分化^[19]。而且流体剪切力与成骨细胞基质蛋白的表达关系密切, 成骨细胞受流体剪切应力刺激后, 骨桥蛋白 (OPN) 和 ALP 表达明显增加, Colla I 与核心蛋白多糖的分泌也明显增多^[20]。骨形态发生蛋白-2 (BMP-2) 是骨形成过程中的重要蛋白分子, 在刺激成骨细胞增殖与分化的过程中起着十分重要的作用。体内研究表明在骨折愈合过程中 BMP-2 的表达上调^[21]; Rath 等^[14]发现, 对成骨细胞施加 10% 的压应力 (11.8 kPa±0.42 kPa) 可刺激 BMP-2、Runt 相关转录因子 2 (Runx2) 及细胞信号转导分子 5 (Smad5) 迅速反应, 进而刺激碱性磷酸酶 2 (Akp2)、Colla I、骨钙蛋白 (OC)、骨粘连蛋白 (ON)、OPN 合成增加。

2.3 对成骨细胞 Ca⁺通道、ERK 通路及细胞因子的影响

成骨细胞受到机械应力刺激后, 通过特定细胞信号转导通路及胞内外离子浓度改变, 将细胞收到的机械刺激信号转导成电化学信号, 调控成骨细胞相关基因及细胞因子合成, 进而产生一系列生物学效应。成骨细胞受力学刺激后早期会出现瞬时细胞内 Ca²⁺聚积, 这是成骨细胞最终达成增殖分化结局所必需的过程^[22-23]。成骨细胞上存在着机械敏感性 Ca⁺通道和电压依赖性 Ca⁺通道, 分别称为 L 型和 T 型通道。研究表明, 流体剪切应力作用于成骨细胞, 激活机械敏感性 Ca⁺通道, 导致 Na⁺内流使细胞膜去极化, 进而激活电压敏感性 Ca⁺通道, 引起瞬时细胞内 Ca⁺聚积^[24], 介导成骨细胞增殖与分化。ERK1、ERK2 是丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 家族的重要成员, 参与成骨细胞的增殖、分化和凋亡^[25-28]。Kapur 等^[29]发现, ERK1、ERK2 是流体剪切力刺激成骨细胞增殖所必

需的, 使用特异性阻断剂阻断二者任何一个均会使成骨细胞增殖受阻。ERK1、ERK2 的激活受成骨细胞 Ca⁺通道的调控, 流体剪切力介导的 ERK1、ERK2 的磷酸化受成骨细胞内 Ca⁺依赖的 ATP 酶的制约, 且其完全活化需要胞内瞬时 Ca⁺集聚和磷脂酶 C 的活化^[30]。转化生长因子β (TGFβ) 是调节成骨细胞增殖分化的重要细胞因子, 可产生 TGFβ1 和 TGFβ2 并释放入骨基质内, 进一步增加骨的形成, 促进骨折愈合和移植周围骨生长^[31]。研究表明, 成骨细胞受牵张应力刺激后, 成骨性因子 TGFβ1 和胰岛素样生长因子 (IGF)-1 的 mRNA 增加, 而破骨性因子 IL-1 的 mRNA 基本不变, 从而对骨质进行局部调节。一氧化氮合酶 (NOS) 可以产生生理浓度的 NO, 环氧化酶 (COX) 可催化花生四烯酸生成前列腺素 E2 (PGE2), 二者对促进成骨细胞增殖, 调节破骨细胞的分化与功能起着至关重要的作用。Mitsui 等^[32]发现对成骨细胞施加 1.0 g/cm² 的压应力可显著促进骨唾液蛋白 (BSP) mRNA 及其蛋白、COX-2 mRNA 的表达以及 PGE2 的合成。另有研究证明, 流体剪切力可刺激 NO、PGE2 等的合成, 并参与成骨细胞增殖的调节, Li 等^[33]则进一步证实了将 12 dyn/cm² 生理性流体剪切力与带 NH₂ 的自转膜共同作用于成骨细胞, 将促进细胞内 ATP、NO 和 PGE2 的显著表达, 这为骨组织工程生物移植材料和生物反应器的设计提供了指导意义。

3 总 结

体外培养成骨细胞, 对成骨细胞施加不同应力刺激, 研究体外培养成骨细胞的最佳应力加载方式, 揭示应力刺激在骨形成和修复中的作用, 为今后进一步研究各种应力刺激对成骨细胞的交互作用以及应力刺激对成骨细胞上下游信号通路的调控、成骨细胞代谢相关细胞因子及基因表达的调节奠定基础, 为临床关节内骨折的愈合、关节置换假体周围骨生长、关节退行性变的防治等临床骨病的治疗和康复相关难题提供重要的理论依据, 进而推进骨与关节等相关学科领域的进一步发展。

【参考文献】

- [1] LeBlanc A, Shackelford L, Schneider V. Future human bone research in space[J]. Bone, 1998, 22(Suppl.5): 113S-116S.
- [2] Vico L, Collet P, Guignandon A, et al. Effects of long-term microgravity exposure on cancellous and cortical weight-bearing bones of cosmonauts[J]. Lancet, 2000, 355(9215): 1607-1611.
- [3] MacKelvie KJ, Khan KM, Petit MA, et al. A school-based exercise

- intervention elicits substantial bone health benefits: A 2-year randomized controlled trial in girls[J]. *Pediatrics*, 2003, 112(6): E447-E452.
- [4] Gardner MJ, Van Der Meulen MC, Demetrakopoulos D, et al. *In vivo* cyclic axial compression affects bone healing in the mouse tibia[J]. *J Orthop Res*, 2006, 24(8): 1679-1686.
- [5] 孙晓雷, 马剑雄, 马信龙. 成骨细胞应力加载方式及生物力学特性的研究进展[J]. *中国骨与关节外科*, 2010, 3(3): 250-254.
Sun XL, Ma JX, Ma XL. Progress on the way of stress stimulating to osteoblasts and its biomechanical properties[J]. *Chinese Journal of Bone and Joint Surgery*, 2010, 3(3): 250-254.
- [6] Brown TD. Techniques for mechanical stimulation of cells *in vitro*: A review[J]. *J Biomech*, 2000, 33(1): 3-14.
- [7] Kaspar D, Seidl W, Neidlinger-Wilke C, et al. Proliferation of human-derived osteoblast-like cells depends on the cycle number and frequency of uniaxial strain[J]. *J Biomech*, 2002, 35(7): 873-880.
- [8] 朱赴东, 赵士芳. 成骨细胞中激活剂蛋白-1 家族成员对流体剪切力的响应[J]. *华西口腔医学杂志*, 2005, 23(5): 380-384.
Zhu FD, Zhao SF. Activating protein-1 members in response to changes of wall-shear stress in osteoblastic cells[J]. *West China Journal of Stomatology*, 2005, 23(5): 380-384.
- [9] 王海明, 夏亚一, 何万庆, 等. β -连环蛋白介导流体剪切力对成骨细胞增殖影响的实验研究[J]. *中国微创外科杂志*, 2010, 10(5): 435-438.
Wang HM, Xia YY, He WQ, et al. Influence of fluid shear stress on β -catenin-mediated osteoblast proliferation[J]. *Chinese Journal of Minimally Invasive Surgery*, 2010, 10(5): 435-438.
- [10] Lee DH, Park JC, Suh H. Effect of centrifugal force on cellular activity of osteoblastic MC3T3-E1 cells *in vitro*[J]. *Yonsei Med J*, 2001, 42(4): 405-410.
- [11] Sato K, Adachi T, Tomita Y. Directional dependency of Ca^{2+} signaling response to mechanical stimulus in osteoblastic cell[J]. *ASME Publications Bed*, 2001, 50: 153-154.
- [12] Diniz P, Soejima K, Ito G. Nitric oxide mediates the effects of pulsed electromagnetic field stimulation on the osteoblast proliferation and differentiation[J]. *Nitric Oxide*, 2002, 7(1): 18-23.
- [13] Zhou J, Ming LG, Ge BF, et al. Effects of 50 Hz sinusoidal electromagnetic fields of different intensities on proliferation, differentiation and mineralization potentials of rat osteoblasts[J]. *Bone*, 2011, 49(4): 753-761.
- [14] Rath B, Nam J, Knobloch TJ, et al. Compressive forces induce osteogenic gene expression in calvarial osteoblasts[J]. *J Biomech*, 2008, 41(5): 1095-1103.
- [15] 董海涛, 盛晓赞, 李鹏, 等. 周期性流体剪切力对成骨细胞增殖影响机制的实验研究[J]. *中国矫形外科杂志*, 2012, 20(3): 255-258.
Dong HT, Sheng XY, Li P, et al. Experimental study on the effects of cyclic fluid shear stress on osteoblast proliferation and its mechanism[J]. *Orthopedic Journal of China*, 2012, 20(3): 255-258.
- [16] Winter LC, Walboomers XF, Bumgardner JD, et al. Intermittent versus continuous stretching effects on osteoblast-like cells *in vitro* [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2003, 67(4): 1269-1275.
- [17] Bjerre L, Bunger CE, Kassem M, et al. Flow perfusion culture of human mesenchymal stem cells on silicate-substituted tricalcium phosphate scaffolds[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(17): 2616-2627.
- [18] Kaspar D, Seidl W, Neidlinger-Wilke C, et al. Dynamic cell stretching increases human osteoblast proliferation and C1CP synthesis but decreases osteocalcin synthesis and alkaline phosphatase activity[J]. *J Biomech*, 2000, 33(1): 45-51.
- [19] Kapur S, Baylink DJ, Lau KH. Fluid flow shear stress stimulates human osteoblast proliferation and differentiation through multiple interacting and competing signal transduction pathways[J]. *Bone*, 2003, 32(3): 241-251.
- [20] Song K, Yang Z, Liu T, et al. Fabrication and detection of tissue-engineered bones with bio-derived scaffolds in a rotating bioreactor [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2006, 45(Pt 2): 65-74.
- [21] Phillips AM. Overview of the fracture healing cascade[J]. *Injury*, 2005, 36(Suppl.3): S5-S7.
- [22] Chen NX, Ryder KD, Pavalko FM, et al. Ca^{2+} regulates fluid shear-induced cytoskeletal reorganization and gene expression in osteoblasts[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2000, 278(5): C989-C997.
- [23] Liedert A, Kaspar D, Blakytyn R, et al. Signal transduction pathways involved in mechanotransduction in bone cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 349(1): 1-5.
- [24] Sun J, Liu X, Tong J, et al. Fluid shear stress induces calcium transients in osteoblasts through depolarization of osteoblastic membrane[J]. *J Biomech*, 2014, 47(16): 3903-3908.
- [25] Boulton TG, Nye SH, Robbins DJ, et al. ERKs: A family of protein-serine/threonine kinases that are activated and tyrosine phosphorylated in response to insulin and NGF[J]. *Cell*, 1991, 65(4): 663-675.
- [26] Pages G, Lenormand P, L'Allemain G, et al. Mitogen-activated protein kinases p42mapk and p44mapk are required for fibroblast proliferation[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(18): 8319-8323.
- [27] Lai CF, Chaudhary L, Fausto A, et al. Erk is essential for growth, differentiation, integrin expression, and cell function in human osteoblastic cells[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(17): 14443-14450.
- [28] Jessop HL, Rawlinson SC, Pitsillides AA, et al. Mechanical strain and fluid movement both activate extracellular regulated kinase (ERK) in osteoblast-like cells but via different signaling pathways [J]. *Bone*, 2002, 31(1): 186-194.
- [29] Kapur S, Chen ST, Baylink DJ, et al. Extracellular signal-regulated kinase-1 and -2 are both essential for the shear stress-induced human osteoblast proliferation[J]. *Bone*, 2004, 35(2): 525-534.
- [30] Liu D, Genetos DC, Shao Y, et al. Activation of extracellular-signal regulated kinase (ERK1/2) by fluid shear is Ca^{2+} - and ATP-dependent in MC3T3-E1 osteoblasts[J]. *Bone*, 2008, 42(4): 644-652.
- [31] Linkhart TA, Mohan S, Baylink DJ. Growth factors for bone growth and repair: IGF, TGF beta and BMP[J]. *Bone*, 1996, 19(1): S1-S12.
- [32] Mitsui N, Suzuki N, Maeno M, et al. Optimal compressive force induces bone formation via increasing bone sialoprotein and prostaglandin E(2) production appropriately[J]. *Life Sci*, 2005, 77(25): 3168-3182.
- [33] Li Y, Luo Y, Xie Z, et al. The optimal combination of substrate chemistry with physiological fluid shear stress[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2013, 112: 51-60.