

## •综述•

## 骨组织工程联合低能量激光疗法修复骨缺损

张经纬 王新涛

**摘要** 骨组织工程的快速发展为骨缺损修复提供了新的思路和方法,但目前尚无一种骨组织工程支架可以完全满足骨缺损修复的各项需要,因此选用有效的辅助手段对骨组织工程进行补充具有重要意义。低能量激光疗法是一种安全、无创且适用范围广的物理治疗方法,对各类组织的再生与修复具有明显促进作用,将低能量激光疗法与各类骨组织工程支架进行联合,以实现骨缺损修复的新突破是许多学者的研究策略。该文对近年来低能量激光疗法联合骨组织工程支架修复骨缺损的研究进行综述。

**关键词** 低能量激光疗法;骨组织工程支架;骨缺损

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-7083.2022.03.006

大段骨缺损的修复一直是临床治疗难点,而骨组织工程学的快速发展为这一类难题提供了新的解决思路与方法。低能量激光疗法是一种兼具安全性与实用性的无创物理治疗方法,具有促进创口愈合与神经修复、缓解疼痛与炎症等多种生物学效应<sup>[1]</sup>。近年来,越来越多的学者选择将骨组织工程技术与临床应用相对成熟的低能量激光疗法联合,以突破骨组织工程技术临床应用的局限。

骨组织工程的三大组成部分为骨替代支架、种子细胞和生物活性因子<sup>[2]</sup>,其中支架为细胞提供了进行各项生物学活动的环境与基础。我们通常将骨替代支架分为无机支架、有机支架和混合支架,无机支架又可根据材料类别分为无机非金属支架与无机金属支架,有机支架则可根据材料来源分为人工有机支架与天然有机支架。

## 1 无机支架联合低能量激光疗法

### 1.1 无机非金属支架

羟基磷灰石是目前骨替代支架材料中被研究最多的生物材料,它是成熟骨组织中含量最高的无机成分,具有良好的生物相容性与骨传导性,但也具有降解缓慢的缺点。Theodoro等<sup>[3]</sup>对6例植入含50%羟基磷灰石骨替代支架患者于术区行波长830 nm的GaAlAs激光照射。他们发现,与非激光照射组的组织学结果对比,GaAlAs激光照射可

明显促进支架降解,其原因可能是低能量激光疗法促进了局部血管的生成与舒张,继而刺激炎症细胞的迁移和代谢,最终导致支架降解速率提高。虽然低能量激光疗法的加入有效改善了此种羟基磷灰石支架的不足,但该研究中未见830 nm波长的GaAlAs激光可促进骨形成,这可能与光照设备具体参数的选择有关。

生物玻璃是最具前景的生物活性陶瓷,其可在支架表面形成具有生物学活性的骨样磷灰石层<sup>[4]</sup>以结合新生骨组织,提高支架植入成功率。Fernandes等<sup>[5]</sup>使用波长808 nm的GaAlAs激光对植入生物玻璃支架的大鼠胫骨缺损进行照射。他们发现,低能量激光不仅能促进支架降解,还可加速新骨形成,尤其在植入手术完成后的第6周,生物玻璃支架显示出更充分的降解。Pinto等<sup>[6]</sup>也得出相同结论,即将波长830 nm的GaAlAs激光与生物硅酸盐支架联合应用,可促进支架周围新骨形成。

### 1.2 无机金属支架

无机金属支架是目前临床应用最广泛的骨替代支架,其具有出色的机械性能和生物相容性,但患者可能需要二次手术取出移植物,这会带来再次创伤,也增加了围手术期患者管理的难度。

de Vasconcellos等<sup>[7]</sup>使用波长780 nm的GaAlAs激光分别对植入钛合金支架的健康大鼠与骨质疏松大鼠进行照射,发现低能量激光可以加速骨形成。不仅如此,他们还观察到低能量激光也可以促进皮肤切口愈合,这可以明显缩短整体治疗时间,并预防术后感染等并发症发生。Theocharidou等<sup>[8]</sup>

基金项目:国家自然科学基金(81772362)、黑龙江省自然科学基金(JQ2020H003)

作者单位:150081, 哈尔滨医科大学附属第二医院骨外科

通信作者:王新涛 E-mail: xintaogf@163.com

则发现,在波长 660 nm 的 GaAlAs 激光刺激下,镁基陶瓷支架内的牙髓干细胞表现出明显的定向分化与矿化能力,并且激光照射组的 RUNT 相关转录因子 2 (Runx-2)、碱性磷酸酶 (ALP) 等早期成骨指标较对照组也显著升高。由此可知,低能量激光在干细胞成骨分化的早期阶段就可以产生有效的生物学刺激效应。

## 2 有机支架联合低能量激光疗法

### 2.1 人工有机支架

人工合成有机高分子材料具有出色的生物可降解性,可以为新生骨提供充足有效的空间,因此该类材料也是骨组织工程支架的常用材料。Calis 等<sup>[9]</sup>的实验研究表明,在波长 600~1 200 nm 范围内的低能量激光可以促进封装于甲基丙烯酸明胶水凝胶中的人脂肪源性干细胞的成骨分化。在骨组织工程中,骨髓间充质干细胞为最常用的种子细胞,但脂肪源性干细胞因易于获取且数量庞大,正成为骨组织工程研究的新热点<sup>[10]</sup>。低能量激光具有提高脂肪源性干细胞等各类干细胞的生物学活性的能力,这对于本身不具备成骨能力的骨替代支架进行了补充,有助于加速骨组织工程技术的临床应用。

随着材料制造技术的发展,支架形式也随之变化。Sabino 等<sup>[11]</sup>将聚乳酸薄膜与 660 nm 的 InGaAlP 激光联合,成功提高了成骨样细胞 MC3T3-E1 的活力与增殖能力。Diniz 等<sup>[12]</sup>将间充质干细胞和人骨形态发生蛋白 4 加载至人工合成水凝胶中,在波长 660 nm 的 InGaAlP 的激光调节下,加速了干细胞的成骨分化与骨形成。随着精准医疗理念与技术的不断发展,将出现更多根据患者骨缺损形状及抗炎、抗感染不同要求特殊设计的骨替代支架,而低能量激光疗法对缺损处组织结构不产生干扰的特点也降低了支架设计与使用时的难度。

### 2.2 天然有机支架

天然有机骨替代材料具有良好的生物相容性和机械强度,这为骨缺损修复提供了稳定的力学支撑。Çakmak 等<sup>[13]</sup>开展研究,将取自家蚕的丝纤维蛋白制成支架,并联合使用 590~1 500 nm 的多色激光系统照射人间充质干细胞。他们发现,在第 14 天激光组的 Runx-2、ALP、I 型胶原蛋白的基因表达均显著高于对照组,在第 28 天骨钙蛋白与骨桥蛋白的表达同样升高。与此同时,在第 28 天激

光组的茜素红染色也较对照组更加强烈均匀。这些结果表明,丝纤维蛋白支架联合激光照射可充分促进人间充质干细胞的成骨分化与矿化,且在成骨早期与中晚期均有影响。

Cruz 等<sup>[14]</sup>报道,以海洋生物中提取的海洋胶原制成骨替代支架并联合 808 nm 的低能量激光照射,有效促进了 Wistar 大鼠颅骨缺损部位的新骨形成。不仅如此,在植入手术后第 45 天,他们发现支架联合照射组的转化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 和血管内皮生长因子 (VEGF) 均显著升高。有研究表明,TGF- $\beta$  在骨重塑阶段发挥重要作用,可以促进骨细胞增殖<sup>[15]</sup>;而 VEGF 则是促进血管形成的主要生物因子<sup>[16]</sup>。

## 3 混合支架联合低能量激光疗法

近年来,单一材料骨组织工程支架的应用越来越少,更多学者选择将不同材料进行组合制成混合支架,从而使各类材料优势叠加,发挥更大的协同促进作用,以更好地满足骨缺损修复的各项需要。Gabbai-Armelin 等<sup>[17]</sup>研究发现,将生物玻璃、胶原蛋白以及镁进行融合后与 808 nm 的 GaAlAs 激光联合应用,可成功促进支架降解与新骨形成。与单纯应用生物玻璃相比,加入镁提高了支架的力学性能。而胶原蛋白作为一种骨组织内的有机成分,它的加入为以后的研究提供了更多方向与可能。Fernandes 等<sup>[5]</sup>在实验研究中也验证,与单纯生物玻璃支架相比,聚乳酸-羟基乙酸共聚物与生物玻璃结合制成的支架在联合低能量激光疗法后,其促进新骨形成的作用更强。

## 4 临床应用前景

低能量激光因具有促进新骨形成与成骨分化等多种生物学功能,在骨组织工程领域已获得越来越多的关注。

已在临床广泛应用的低能量激光疗法不仅具有良好的促进干细胞成骨分化和新骨形成能力,其缓解切口疼痛与炎症、促进切口愈合等功能对于骨组织工程支架起到有效补充。目前骨组织工程支架主要采用开放手术方式植入至骨缺损部位,手术切口对术后的镇痛、抗感染等支持治疗带来一定难度,而低能量激光疗法通常在支架植入手术后持续一个或几个疗程<sup>[7,14,17]</sup>,这恰好给低能量激光全面发挥生物学作用提供了时机。

血管化一直是骨组织工程中需要解决的重要问题,只有形成足够数量的血管及包含各层级的

血管网才能最终保证新骨形成。低能量激光疗法已被证实可以促进 VEGF 等血管活性因子产生,是促进组织血管化的有效方法。尽管如此,低能量激光疗法的作用机制仍不明确,目前学者们比较公认的是低能量激光主要通过影响细胞线粒体中的细胞色素 C 氧化酶,继而对细胞的氧化代谢进行调节<sup>[18]</sup>。另外,低能量激光具有“双相作用”<sup>[19]</sup>,即激光的生物学效应随激光强度的增强而增强,但强度达到一定值后,继续增加激光强度则带来生物学效应的抑制,因此选择最合适的参数一直是低能量激光应用的难点。

此外,对于骨质疏松症患者,自体骨移植、骨组织工程支架等治疗方法的效果总是难以令人满意,但低能量激光已被证实可以治疗骨质疏松症,减少骨质流失,改善骨代谢<sup>[20]</sup>,这进一步说明低能量激光疗法联合骨组织工程具有广阔的临床应用前景。

总的来说,低能量激光的多种生物学功能都对骨组织工程修复骨缺损起到了有效的补充与加强。但我们仍需深入探究两者联合修复骨缺损时分子生物学层面的具体机制,以便实现骨缺损修复的精准化、快速化与个性化。

#### 参考文献

- [1] Yadav A, Gupta A. Noninvasive red and near-infrared wavelength-induced photobiomodulation: promoting impaired cutaneous wound healing[J]. Photodermatol Photoimmunol Photomed, 2017, 33(1): 4-13.
- [2] Ho-Shui-Ling A, Bolander J, Rustom L, et al. Bone regeneration strategies: engineered scaffolds, bioactive molecules and stem cells current stage and future perspectives[J]. Biomaterials, 2018, 180: 143-162.
- [3] Theodoro L, Rocha G, Ribeiro Junior V, et al. Bone formed after maxillary sinus floor augmentation by bone autografting with hydroxyapatite and low-level laser therapy[J]. Implant Dent, 2018, 27(5): 547-554.
- [4] Gerhardt L, Boccaccini A. Bioactive glass and glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering[J]. Materials (Basel), 2010, 3(7): 3867-3910.
- [5] Fernandes K, Magri A, Kido H, et al. Biosilicate/PLGA osteogenic effects modulated by laser therapy: in vitro and in vivo studies[J]. J Photochem Photobiol B, 2017, 173: 258-265.
- [6] Pinto K, Tim C, Crovace M, et al. Effects of biosilicate® scaffolds and low-level laser therapy on the process of bone healing[J]. Photomed Laser Surg, 2013, 31(6):252-260.
- [7] de Vasconcellos L, Barbara M, Da Silva Rovai E, et al. Titanium scaffold osteogenesis in healthy and osteoporotic rats is improved by the use of low-level laser therapy (GaAlAs)[J]. Lasers Med Sci, 2016, 31(5): 899-905.
- [8] Theocharidou A, Bakopoulou A, Kontonasi E, et al. Odontogenic differentiation and biomineralization potential of dental pulp stem cells inside Mg-based bioceramic scaffolds under low-level laser treatment[J]. Lasers Med Sci, 2017, 32(1): 201-210.
- [9] Calis M, Irmak G, Demirtaş T, et al. Photobiomodulation combined with adipose-derived stem cells encapsulated in methacrylated gelatin hydrogels enhances in vivo bone regeneration[J]. Lasers Med Sci, 2022, 37 ( 1 ): 595-606.
- [10] Si Z, Wang X, Sun C, et al. Adipose-derived stem cells: sources, potency, and implications for regenerative therapies[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 114: 108765.
- [11] Sabino V, Ginani F, Silva T, et al. Laser therapy increases the proliferation of preosteoblastic MC3T3-E1 cells cultured on poly(lactic acid) films[J]. J Tissue Eng Regen Med, 2020, 14(12): 1792-1803.
- [12] Diniz I, Carreira A, Sipert C, et al. Photobiomodulation of mesenchymal stem cells encapsulated in an injectable rhBMP4-loaded hydrogel directs hard tissue bioengineering[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(6): 4907-4918.
- [13] Çakmak A, Çakmak S, Vatansever H, et al. Photostimulation of osteogenic differentiation on silk scaffolds by plasma arc light source[J]. Lasers Med Sci, 2018, 33(4): 785-794.
- [14] Cruz M, Fernandes K, Parisi J, et al. Marine collagen scaffolds and photobiomodulation on bone healing process in a model of calvaria defects[J]. J Bone Miner Metab, 2020, 38(5): 639-647.
- [15] Majidinia M, Sadeghpour A, Yousefi B. The roles of signaling pathways in bone repair and regeneration[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(4): 2937-2948.
- [16] Ruh A, Frigo L, Cavalcanti M, et al. Laser photobiomodulation in pressure ulcer healing of human diabetic patients: gene expression analysis of inflammatory biochemical markers[J]. Lasers Med Sci, 2018, 33(1): 165-171.
- [17] Gabbai-Armelin PR, Caliri HM, Silva DF, et al. Association of Bioglass/Collagen/Magnesium composites and low level irradiation: effects on bone healing in a model of tibial defect in rats[J]. Laser Ther, 2018, 27(4): 271-282.
- [18] Dompe C, Moncrieff L, Matys J, et al. Photobiomodulation: underlying mechanism and clinical applications[J]. J Clin Med, 2020, 9(6): 1724.
- [19] Huang Y, Chen A, Carroll JD, et al. Biphasic dose response in low level light therapy[J]. Dose Response, 2009, 7(4): 358-383.
- [20] Mohsenifar Z, Fridoni M, Ghatrehsamani M, et al. Evaluation of the effects of pulsed wave LLLT on tibial diaphysis in two rat models of experimental osteoporosis, as examined by stereological and real-time PCR gene expression analyses[J]. Lasers Med Sci, 2016, 31(4): 721-732.

( 收稿日期 : 2022-02-24 )

( 本文编辑 : 杨晓娟 )