

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00843

骨形态发生蛋白主导的多因子联合应用促进成骨作用研究进展

吴永发,王科嘉,苏佳灿*

第二军医大学长海医院骨科,上海 200433

[摘要] 骨形态发生蛋白(BMPs)在骨发生、诱导和修复方面发挥着重要而关键的作用,是目前最肯定的具有诱导成骨作用的生长因子。转化生长因子 β (TGF- β)、胰岛素生长因子 I (IGF- I)和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)等也具有一定的促成骨作用,BMPs与这些因子的联合应用能更好地促进骨折或者骨不连的修复,在骨科具有广阔的应用前景。

[关键词] 骨形态发生蛋白;TGF- β ;IGF- I ;FGF;骨折

[中图分类号] R 683 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)07-0843-03

Bone morphogenetic protein-oriented multi-factor combined application in promoting osteogenesis: recent progress

WU Yong-fa, WANG Ke-jia, SU Jia-can*

Department of Orthopaedics, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[ABSTRACT] Bone morphogenetic proteins (BMPs) play a pivotal role in the formation, induction and repair of the bone; BMPs have been confirmed to induce bone formation. Transforming growth factor-beta, insulin-like growth factor- I and basic fibroblast growth factor also contribute to bone formation; combination of the factors with BMPs can promote the healing of fracture and non-union, which may have a bright future in orthopedics.

[KEY WORDS] bone morphogenetic proteins; TGF- β ; IGF- I ;FGF; fractures

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(7): 843-845]

目前创伤后骨折愈合延迟或不愈合的发生率较高,缺乏经济、有效的治疗方法。骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)能有效地诱导成骨、促进骨修复,对骨折愈合延迟和骨不连有显著疗效;BMPs主导的多因子联合治疗成为骨折愈合延迟和骨不连新的治疗手段,是目前相关研究的热点^[1]。

1 BMPs 概述

BMPs是目前唯一能诱导异位成骨的细胞因子,能够诱导间充质细胞和祖细胞分化为软骨细胞和成骨细胞,而且还可诱导非骨组织来源的细胞株,如多能成纤维细胞,分化为成骨细胞,从而诱导新骨生成^[2]。迄今为止,至少发现了20种BMPs,除BMP-1外,其他BMPs均属于转化生长因子 β (transforming growth factor-beta, TGF- β)超家族成员^[3]。与TGF- β 相比较,BMPs肽链中含2个额外的保守半胱氨酸序列,其活性蛋白分子为二聚体。目前应用于临床的BMPs主要包括BMP-2、3、4、5、7,使用较多的是BMP-2和BMP-7,后者也称骨形成蛋白-1(OP-1)。BMP-2或BMP-7能够促进骨

折愈合,已经被广泛应用于临床治疗骨不连和股骨头无菌性坏死等,取得了较为理想的效果^[4]。

BMPs临床应用的方法有3种:局部注射、载体植入缓释和基因治疗。局部注射BMPs应用时间较长,可以有效引入外源性BMPs,促进骨愈合。大多数需要BMPs治疗的患者都需要手术,在术中用载体将BMPs缓释于目标位置,是一条方便、有效的用药途径,但目前缺乏最佳的应用载体^[5]。近年来,基因治疗成为严重骨折和骨不连最受关注的新疗法^[6],通过基因转移或基因转染技术将外源性BMPs基因转入恰当的靶细胞内,使之连续释放内源性BMPs,并以自身分泌或旁分泌的形式作用于该靶细胞,既可使这些细胞能在局部分泌BMPs以促进骨修复,又可大大弥补外源性BMPs局部应用的缺陷。

2 BMPs 成骨作用机制

BMPs二聚体结合位于靶细胞膜上的BMPs II型受体,II型受体在近膜细胞质的GS区将I型受体磷酸化而激活I型受体,激活的I型受体将激活一系列胞内信号转导蛋白,

[收稿日期] 2008-12-09 **[接受日期]** 2009-03-07

[基金项目] 长海医院临床医学“育才”专项A类基金资助。Supported by Specialized Research Fund for Clinical Medicine of Changhai Hospital.

[作者简介] 吴永发,第二军医大学临床医学专业八年制2004级学员。E-mail:slkyongfa@126.com

* 通讯作者(Corresponding author). Tel:021-81873400, E-mail:sujiacan@yahoo.com.cn

即 Smads, Smads 家族将信号从胞膜转入胞核,最终诱导 BMPs 的靶基因转录及蛋白表达^[7]。

Smads 信号通路是 BMPs 信号转导中研究得较清楚的一种,也被证明是 BMPs 信号转导中最重要的通路之一。BMPs 也激活非 Smads 的细胞内信号通路。Ulsamer 等^[8]发现 BMPs 可通过激活 MAPK 家族中的 p38,刺激成骨细胞的碱性磷酸酶和骨钙素的表达,最终促进成骨细胞的成骨作用。Notch 信号转导通路也可能参与 BMPs 对成骨细胞的分化,并且与 Smads 通路有一定的交叉^[9]。

3 BMPs 主导的多因子联合治疗

BMPs 诱导未分化的间充质细胞不可逆地分化为软骨细胞和成骨细胞,通过钙盐沉积,导致新骨形成,启动骨生成,具有高效的异位诱导成骨作用,但对已分化、成熟的成骨细胞和软骨细胞无生物学效应。除 BMPs 外还有一些其他因子也参与成骨作用,这些因子虽不能直接诱导未分化的间充质细胞分化,但可促进软骨细胞和成骨细胞增殖或分化,诱导软骨和骨基质合成,进而更好地促进骨形成。因此 BMPs 联合其他因子应用于成骨越来越受到关注。其中 TGF- β 1、胰岛素生长因子 I (insulin-like growth factor-I, IGF-I) 和碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)是目前研究的热点。

3.1 二因子联合应用 Smads 蛋白是 TGF- β 家族从受体到细胞核的胞内信号转导分子之一,而 Smads 蛋白是 BMPs 发挥作用的关键因素,提示 BMPs 与 TGF- β 可能具有协同作用^[10]。TGF- β 单独应用只能促进骨膜中前成骨细胞增殖,但与 BMPs 联合时,能够诱导成骨。因此,当 TGF- β 1 和 BMPs 联合应用时,BMPs 的异位骨诱导作用弥补了 TGF- β 1 的不足,使 TGF- β 1 的成骨能力增强,而同时 TGF- β 1 也能增加 BMPs 的诱导能力。Kirkbride 等^[11]发现,BMP-2 可以通过 TGF- β 受体信号转导通路,诱导骨髓间充质干细胞的分化,增强成骨作用。由此可见,在促进骨生成方面,TGF- β 与 BMPs 具有良好的协同作用。

IGF-I 是调节软骨细胞有丝分裂最重要的生长因子,同时还可抑制软骨基质的降解。Takahashi 等^[12]用 BMPs 和 IGF-I 共同作用于软骨细胞,发现 BMPs 通过调节 IGF-I 受体和 IGF 结合蛋白,使得 IGF-I 的促软骨细胞分裂能力增强。除此之外,IGF-I 还可以与成骨细胞膜上高亲和力受体结合,影响成骨细胞分化,兴奋碱性磷酸酶,促进骨钙素合成及增强骨连接素的表达,达到促进骨折愈合的目的。但 Mukherjee 等^[13]研究发现,IGF-I 与 BMPs 的协同成骨作用会被 IGF 结合蛋白阻断,而 IGF 结合蛋白和 IGF-I 的活性密切相关,认为 IGF-I 与 BMPs 并没有协同作用。因此对于 IGF-I 和 BMPs 的联合应用仍有待进一步研究。

bFGF 是一种广谱有丝分裂和毛细血管增殖刺激剂,对来源于中胚层和神经外胚层的细胞,如成纤维细胞、血管内皮细胞、软骨细胞、成骨细胞等有明显的促增殖作用。Mar-

cinkowska 等^[14]研究认为 bFGF 促进骨髓基质细胞的增殖,是通过激活磷脂酶 C 和促分裂原活化蛋白激酶实现的。所以 bFGF 通过促进已分化细胞的增殖,促进血管形成,与 BMPs 在生物学功能上形成互补,加速骨诱导、骨形成的过程,弥补了单一使用 BMPs 的不足。

除此之外,血小板衍生生长因子、前列腺素^[15]、甲状旁腺素^[16]等联合 BMPs 在一定程度上也可以促进成骨作用。不同类型的 BMPs 联合应用也会取得一些效果。Laflamme 等^[17]将 BMP-2 和 BMP-7 联合应用于成骨细胞的培养,发现二者联合相对于单一应用,更能促进成骨细胞的生长和分泌对成骨有利的因子。

3.2 多因子联合应用 骨骼的生长或愈合是多因子共同作用的结果,骨组织本身也是庞大的生长因子库,不同的生长因子作用于成骨的不同或者同一阶段,通过各自的机制,严格调控骨吸收和骨形成间的平衡。因此目前已经不再局限于单因子或者二因子的联合,更多的是三因子或更多因子的联合应用,并且已经发现多因子的联合应用效果更明显。Schmidmaier 等^[18]将 IGF-I、TGF- β 和 BMP-2 两两联合或三者联合应用于大鼠的股骨骨折愈合实验,发现三者联合应用对于骨折愈合,在生物力学和组织学上效果都更为明显,同时并发症也降低。

多因子联合治疗的结果并非不同因子作用的简单累加,不同因子之间通过不同的机制,共同调节骨形成。剂量、剂型、使用时机等多方面的差异导致不同组合模式的成骨作用差异明显。Palmer 等^[19]应用腺病毒转染 TGF- β 1、BMP-2 或 IGF-I,与骨髓间充质干细胞共培养,发现干细胞诱导软骨形成的能力与这些因子的表达量和持续时间密切相关,当 TGF- β 1 或 BMP-2 表达超过 100 ng/ml,骨髓间充质干细胞诱导软骨形成的能力减弱,而 IGF-I 没有这种现象。Tana-ka 等^[20]将冻干的含有重组人 BMP-2 的聚乳酸明胶海绵分别与 0.025、0.25 μ g bFGF-2 复合植入鼠的颅骨缺损处,结果发现低剂量的 bFGF-2 联合 BMPs 能更好地促进新骨的钙化和提高碱性磷酸酶活性。Huang 等^[21]通过观察鼠骨祖细胞的成熟和分化过程,检测不同生长因子的表达时间顺序,发现血管内皮细胞生长因子(VEGF)和 IGF-I 在整个培养过程中一直高表达,PDGF 和 TGF- β 呈现前后两个表达时间峰,FGF-2 和 BMP-2 则在细胞的分化后期才表达,这对指导不同因子的应用时间具有重要意义。

总之,诱导成骨是一系列细胞因子复杂的网络调节过程,并不是简单的将促进成骨作用的因子联合使用就能促进骨骼的生长、愈合,所以研究不同因子协同作用的组合模式、制定组合标准化是下一步研究的重点。

4 小结和展望

BMPs 与其他生长因子能够协同促进成骨作用,各因子间的作用并不是单纯的累加,而是存在精确的调节机制,既与剂量、空间有关,又与配比、时间有关,不同的模式所产生

的效果差别巨大,所以如何更好地发挥不同因子的协同作用还有待深入研究。多因子的联合应用是未来 BMPs 临床治疗的必然方向,其在骨科具有广阔的应用前景,为骨科治疗由巨创向微创甚至无创转化奠定基础。

[参考文献]

- [1] Vaibhav B, Nilesh P, Vikram S, Anshul C. Bone morphogenetic protein and its application in trauma cases: a current concept update[J]. *Injury*, 2007, 38: 1227-1235.
- [2] Bishop G B, Einhorn T A. Current and future clinical applications of bone morphogenetic proteins in orthopaedic trauma surgery[J]. *Int Orthop*, 2007, 31: 721-727.
- [3] Hsu W K, Wang J C. The use of bone morphogenetic protein in spine fusion[J]. *Spine J*, 2008, 8: 419-425.
- [4] Schmidmaier G, Schwabe P, Wildemann B, Haas N P. Use of bone morphogenetic proteins for treatment of non-unions and future perspectives[J]. *Injury*, 2007, 38(Suppl 4): S35-S41.
- [5] Jung R E, Weber F E, Thoma D S, Ehrbar M, Cochran D L, Himmerle C H. Bone morphogenetic protein-2 enhances bone formation when delivered by a synthetic matrix containing hydroxyapatite/tricalciumphosphate[J]. *Clin Oral Implants Res*, 2008, 19: 188-195.
- [6] Nixon A J, Goodrich L R, Scimeca M S, Witte T H, Schnabel L V, Watts A E, et al. Gene therapy in musculoskeletal repair[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1117: 310-327.
- [7] Miyazono K, Maeda S, Imamura T. BMP receptor signaling: transcriptional targets, regulation of signals, and signaling cross-talk[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2005, 16: 251-263.
- [8] Ulsamer A, Ortuno M J, Ruiz S, Susperregui A R, Osses N, Rosa J L, et al. BMP-2 induces Osterix expression through up-regulation of Dlx5 and its phosphorylation by p38[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283: 3816-3826.
- [9] de Jong D S, Steegenga W T, Hendriks J M, van Zoelen E J, Olijve W, Decherig K J. Regulation of Notch signaling genes during BMP2-induced differentiation of osteoblast precursor cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 320: 100-107.
- [10] Hiyama A, Mochida J, Omi H, Serigano K, Sakai D. Cross talk between Smad transcription factors and TNF-alpha in intervertebral disc degeneration[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 369: 679-685.
- [11] Kirkbride K C, Townsend T A, Bruinsma M W, Barnett J V, Blobe G C. Bone morphogenetic proteins signal through the transforming growth factor-beta type III receptor[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283: 7628-7637.
- [12] Takahashi T, Morris E A, Trippel S B. Bone morphogenetic protein-2 and -9 regulate the interaction of insulin-like growth factor- I with growth plate chondrocytes[J]. *Int J Mol Med*, 2007, 20: 53-57.
- [13] Mukherjee A, Rotwein P. Insulin-like growth factor-binding protein-5 inhibits osteoblast differentiation and skeletal growth by blocking insulin-like growth factor actions[J]. *Mol Endocrinol*, 2008, 22: 1238-1250.
- [14] Marcinkowska E, Wiedlocha A. Phosphatidylinositol-3 kinase-dependent activation of Akt does not correlate with either high mitogenicity or cell migration induced by FGF-1[J]. *Anticancer Res*, 2003, 23(5A): 4071-4077.
- [15] Namikawa T, Terai H, Hoshino M, Kato M, Toyoda H, Yano K, et al. Enhancing effects of a prostaglandin EP4 receptor agonist on recombinant human bone morphogenetic protein-2 mediated spine fusion in a rabbit model[J]. *Spine*, 2007, 32: 2294-2299.
- [16] Tsiridis E, Morgan E F, Bancroft J M, Song M, Kain M, Gerstenfeld L, et al. Effects of OP-1 and PTH in a new experimental model for the study of metaphyseal bone healing[J]. *J Orthop Res*, 2007, 25: 1193-1203.
- [17] Laflamme C, Rouabhia M. Effect of BMP-2 and BMP-7 homodimers and a mixture of BMP-2/BMP-7 homodimers on osteoblast adhesion and growth following culture on a collagen scaffold[J]. *Biomed Mater*, 2008, 3: 15008.
- [18] Schmidmaier G, Lucke M, Schwabe P, Raschke M, Haas N P, Wildemann B. Collective review: bioactive implants coated with poly(D, L-lactide) and growth factors IGF- I, TGF-beta1, or BMP-2 for stimulation of fracture healing[J]. *J Long Term Eff Med Implants*, 2006, 16: 61-69.
- [19] Palmer G D, Steinert A, Pascher A, Gouze E, Gouze J N, Betz O, et al. Gene-induced chondrogenesis of primary mesenchymal stem cells *in vitro*[J]. *Mol Ther*, 2005, 12: 219-228.
- [20] Tanaka E, Ishino Y, Sasaki A, Hasegawa T, Watanabe M, Dalla-Bona D A, et al. Fibroblast growth factor-2 augments recombinant human bone morphogenetic protein-2-induced osteoinductive activity[J]. *Ann Biomed Eng*, 2006, 34: 717-725.
- [21] Huang Z, Nelson E R, Smith R L, Goodman S B. The sequential expression profiles of growth factors from osteoprogenitors to osteoblasts *in vitro*[J]. *Tissue Eng*, 2007, 13: 2311-2320.

[本文编辑] 贾泽军