

同种异体骨复合生长因子移植的研究

詹旭¹, 周辉², 范小良³

(1.浙江中医药大学 208# 信箱, 浙江 杭州 310053; 2.杭州市中医院; 3.杭州市第一人民医院)

【摘要】 骨移植是骨科临床常用的方法, 其中异体骨移植越来越受重视。本文对异体骨与不同生长因子复合移植的研究进行了综述, 并且提出了多种生长因子与助诱导、抗感染、抑制免疫等载体复合移植是今后异体骨移植的发展方向。

【关键词】 生长因子; 移植, 同种; 骨移植; 综述文献

Study progress of allograt bone combined with growth factors transplantation ZHAN Xu*, ZHOU Hui, FAN Xiao-liang.
*The Number 208 Mailbox, Zhejiang University of TCM, Hangzhou 310053, Zhejiang, China

ABSTRACT Bone transplantation is widely used in orthopaedics, and allograft bone transplantation is being more and more emphasized. In this article, the allograft bone combined with growth factors transplantation for repairing bone defects were reviewed. Moreover, the way to compound many growth factors and other material is the tendency of allogenic bone grafting, which enhance the opportunity of success in bone transplanting.

Key words Growth factor; Transplantation, homologous; Bone transplantation; Review literature

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2009, 22(3):244-246 www.zggszz.com

创伤、感染及骨肿瘤等造成的骨缺损治疗起来常困难, 骨移植是治疗骨缺损的主要方法, 同时也是骨科最常用的治疗方法之一。传统的移植材料是自体骨, 具有骨生成能力强、容易愈合的特点, 但因来源有限、二次伤害、增加感染机会等原因限制其临床应用。人工假体也能修复部分骨缺损, 但缺乏生物活性。自同种异体骨库建立后, 异体骨的研究和应用才日趋活跃, 异体骨移植也被普遍接受, 并大量应用于临床, 但制备和库存的同种异体骨的细胞活性大多丧失, 不具备自身成骨能力。在宿主部位的成骨效应是通过骨诱导和骨传导作用进行, 异体骨移植后血管重建迟缓、愈合缓慢等仍是需要解决的问题。生长因子通过“旁分泌”和“自分泌”的形式使得间质细胞分化为软骨细胞和骨细胞促进新骨形成, 在同种异体骨移植愈合早期起重要作用, 目前促进异体骨与宿主骨愈合主要运用下面方法。

通讯作者: 詹旭 E-mail: moneyhoo@gmail.com

1 复合单独生长因子

1.1 骨形态发生蛋白 BMP (bone morphogenetic protein)

1982 年, Urist 等从牛骨中提纯了牛的骨形态发生蛋白, 提出了诱导成骨的新概念, 并于 1986 年首次用骨形态发生蛋白修复 1 例指骨内生软骨瘤刮除术后的骨缺损获得成功。长期以来, 对 BMP 生物活性的研究主要集中在起诱导骨活性上^[1], BMP 可诱导结缔组织中的间充质细胞、骨髓基质细胞、滑膜细胞、成纤维细胞呈现软骨细胞及骨细胞表型。诱导过程先是局部间质细胞的聚集, 继而分化, 包括形态和代谢的改变、向软骨细胞的表型转化, 然后软骨细胞向骨细胞表型转化, 局部碱性磷酸酶活性增长, 骨钙素等蛋白质合成, 发生软骨内成骨^[2], 通过“旁分泌”和“自分泌”的形式使得间质细胞不可逆地分化为软骨细胞和骨细胞, 促进新骨形成, 在同种异体骨移植愈合早期起重要作用^[3-4]。Jones 等^[5]把有胫骨骨干骨折伴有皮质骨缺损的成年患者用 rhBMP-2/异体骨复合物移植治疗, 明显优于接受自体骨移植治疗组。金格勒等^[6]通过在兔腰椎

chanical properties of tissue-engineered cartilage. Tissue Eng, 2004, 10(9-10): 1323-1331.

[18] Waldman SD, Spiteri CG, Grynbas MD, et al. Long-term intermittent shear deformation improves the quality of cartilaginous tissue formed in vitro. J Orthop Res, 2003, 21(4): 590-596.

[19] Jin G, Sah RL, Li YS, et al. Biomechanical regulation of matrix metalloproteinase-9 in cultured chondrocytes. J Orthop Res, 2000, 18(6): 899-908.

[20] Trindade MC, Shida J, Ikenoue T, et al. Intermittent hydrostatic pressure inhibits matrix metalloproteinase and pro-inflammatory mediator release from human osteoarthritic chondrocytes in vitro. Osteoarthritis Cartilage, 2004, 12(9): 729-735.

[21] 邱贵兴, 于胜吉. 整合素在细胞力学传导中的作用. 中华骨科杂志, 2006, 26(7): 491-492.

(收稿日期: 2008-06-25 本文编辑: 王玉蔓)

横突间分别植入 rhBMP-2/异体复合骨组、单纯异体骨组、自体髂骨条的实验研究,证实 rhBMP-2/异体复合骨组在融合率、成骨速度及骨成熟程度方面明显优于自体骨组和异体骨组。定量分析植骨区内新骨形成面积复合骨组和自体骨组无明显差别,但均明显优于单纯异体骨组。

1.2 碱性成纤维细胞生长因子 bFGF (basic fibroblast growth factor) 1974 年, Gospodarowicz 等首次从牛神经组织纯化到该物质,并将其命名为成纤维细胞生长因子(FGF)。体外研究表明 bFGF 是一种丝裂原,对未分化的间充质细胞、血管内皮细胞、纤维原细胞、平滑肌细胞、角化细胞、软骨细胞等多种细胞的增殖,刺激毛细血管内皮细胞和血管再生过程中细胞的增殖和迁移,是一种毛细血管增殖刺激剂,能促使毛细血管向断端内以及移植物中生长,使骨修复早期的组织中软骨岛数量增多,并使断端骨痂和骨移植物中提前血管重建时限,从而促进需要血供的软骨内化骨,加速了软骨痂的成熟和骨化^[7-8],还是骨代谢过程中重要的调控因子,能够通过多种信号传导通路调控细胞的数量和成骨活动。Wang 等^[9]在大鼠胫骨缺损处植入经过 bFGF 预处理的同种异体骨,6 周后未经 bFGF 预处理的同种异体骨生长几乎停止,而在经过 bFGF 处理的标本,膜骨化仍在进行之中。李峰等^[10]用 bFGF 与同种异体脱钙骨复合移植修复兔桡骨缺损,发现复合组在影像学组织学成骨量上均优于异体骨单独移植组。

1.3 血小板衍生生长因子 (platelet-derived growth factor, PDGF) PDGF 在体外具有促进纤维细胞生长的作用,它对所有起源于间叶细胞(包括成骨细胞)具有丝裂原作用,同时还能增强单核细胞、成纤维细胞的游走性,使局部成纤维细胞增殖分化,从而促进骨形成。同时 PDGF 又能刺激骨吸收,对骨重建起双向调节作用。Mott 等^[11]用脱钙冷冻干燥异体骨与血小板衍生生长因子复合在体外培养,发现有显著提高小鼠成骨细胞活性的作用。而 Peidro 等^[12]用冻干异体骨与血小板衍生生长因子来修复肩关节置换后关节盂缺损,组织学检查表明加上血小板衍生生长因子对移植物似乎有助于增加愈合和硬度,但并不促进新骨生长。

1.4 转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) TGF- β 可刺激成骨细胞分泌几种骨基质蛋白,如纤维结合蛋白、蛋白聚糖和骨粘素^[13-14]。研究证实骨折的不同阶段,TGF- β 从诱导间充质细胞分化到刺激骨痂形成、钙化以及骨的塑形都有明显的作用^[15]。赵广民等^[16]用 rhTGF- β 与同种异体骨复合后植入兔桡骨缺损区,术后 8~12 周组织学检查和放射性核素骨扫描检查均证明实验侧移植区成骨活性均明显高于对照侧,且在术后 12 周 X 线片示实验侧骨缺损在大部分动物中即完全愈合,而对照侧仅在连接处包裹骨痂,而骨折线清晰,无愈合征象。

1.5 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) VEGF 在骨形成与代谢中的作用,主要体现在 3 个方面:①通过促进内皮细胞增殖、血管生成参与骨发育形成;②作为旁分泌因子参与骨形成代谢^[17];③分子动力学研究表明 VEGF 还可通过作用于成骨细胞表达的 fil-1 受体,增加成骨细胞分化、迁移、扩增、积聚^[18],这些都对骨形成及修复起到正性调节作用。邹平洲等^[19]在兔制成双侧桡骨中段 1.5 cm 骨

缺损模型中,通过术后不同阶段行 X 线片、病理切片、血管密度免疫组织化学染色和四环素荧光成骨检测,评估骨缺损的修复情况,表明 VEGF 能加速移植的异体骨血管化和爬行替代,促进异体骨和宿主骨愈合。

2 与多种材料复合移植

Burkus^[20]认为特定部位骨组织的生成要求 5 个基本条件:①成骨细胞的存在;②骨传导基质;③有利的生物力学环境;④移植物的进行性血管化;⑤最重要的是骨诱导刺激物的存在。虽然不同生长因子都具有一定细胞移植、分化,即诱导骨生长能力,在骨与软骨生长及修复过程中常是多种生长因子共同参与并相互作用。Peng 等^[21-22]实验发现 VEGF 能促进 BMP-2 诱导骨生成作用,而 BMP 可上调 VEGF 的表达,而 VEGF 又通过促进局部血管增生和成骨细胞分化参与 BMP 的诱导成骨作用,使骨缺损区的血供增强。Kilian 等^[23]发现 PDGF 能明显促进血管生成和 VEGF-R₁ 合成和表达。

应用单一的因子刺激骨折愈合不一定能获得有意义的结果, Ma 等^[24]在胫骨异体骨移植处局部连续注射 BMP-7 和 bFGF-2 4 周后发现愈合情况可以媲美自体骨组。刘强等^[25]冷冻异体骨加 TGF- β 1 和 bFGF 复合移植修复兔桡骨缺损,结果 X 线检查自体移植较异体移植提前愈合,同位素扫描计数分析 2 周后复合组和自体骨组明显优于异体骨组,组织学观察异体移植骨切片可见明显的髓腔内诱导成骨相。

然而各种提纯的因子的量都很少,也需要有一定的载体,否则在体内很难在某一部位存留,理想的模式应是多种骨诱导因子、细胞因子与载体的结合。I 型胶原广泛存在于骨骼、肌腱、皮肤等组织,其本身并不具有成骨性和骨诱导性^[26],能完全吸收降解,具有良好的可塑性,可制成多种形状。可吸收胶原海绵已为商品化的产品,具有良好的黏附性和多孔状结构,具有较好的缓释功能^[27]。黄师等^[28]用重组人骨形态发生蛋白-2 (rhBMP 2) 和 I 型可吸收胶原海绵(ACS)分别复合异体骨植入兔股骨缺损处,术后 12 周观察发现异体骨+rhBMP 2+ ACS 组在新骨形成率、骨孔隙率、骨单位半径和哈佛氏管直径等方面均优于异体骨+ rhBMP 2 组、异体骨+ACS 组、单独异体骨组,与自体骨组相仿。陈庆等^[29]用 bFGF 和透明质酸钠结合冷冻干燥同种异体骨移植修复兔骨缺损,在新骨生成、骨代谢活性和钙含量的缺陷方面明显优于 bFGF 复合异体骨组、透明质酸钠复合异体骨组、单纯异体骨组,提示 bFGF 能够促进新骨形成,而透明质酸钠能提高 bFGF 的效能。姜文学等^[30]用在兔桡骨 10 mm 节段性骨缺损动物模型,说明 PLGA 复合 bBMP、bFGF 和 IGF- II 人工骨膜通过刺激血管增生和免疫调节作用能加快异体骨的血管化,降低免疫反应,促进其与宿主骨的愈合。同时,异体骨能起到支架的作用,可有效避免人工骨膜的塌陷。将诱导性膜引导骨再生技术与异体骨联合应用比单纯应用以上两种材料更能有效促进长骨节段性骨缺损的修复。

3 结语

综上所述,复合性异体骨作为骨移植材料不仅材料来源广泛,取之方便,能满足日益增多的患者对骨移植的需求,而且可以避免自体骨移植二次手术时可能造成的并发症,缩短手术时间。医学免疫学及细胞生物学的迅猛发展,生长因子

BMP、bFGF 及生物膜技术的应用, 组织工程学的兴起和基因疗法、克隆技术的应用为同种异体骨移植提供了坚实的客观条件。可以预见, 今后异体骨移植不仅要成骨活性物质、抗生素与异体骨复合, 而且还可将一些免疫抑制剂、自体骨膜同时复合在异体骨上, 减轻局部及全身的排斥反应, 有助于诱导、抗感染、抑制免疫有机地结合在一起, 让其在结构和功能上更加完备, 使复合异体骨有更广阔的应用前景。

参考文献

- [1] Yu Y, Yang JL, Chapman-Sheath PJ, et al. TGF- β , BMPs, and their signal transducing mediators, Smads, in rat fracture healing. *J Biomed Mater Res*, 2002, 60(3): 392-397.
- [2] Imai Y, Terai H, Nomura-Furuwatari C, et al. Hepatocyte growth factor contributes to fracture repair by upregulating the expression of BMP receptors. *J Bone Miner Res*, 2005, 20(10): 1723-1730.
- [3] Hanada K, Solchaga LA, Caplan AI, et al. BMP-2 induction and TGF- β 1 modulation of rat periosteal cell chondrogenesis. *J Cell Biochem*, 2001, 81(2): 284-294.
- [4] 周光新, 施鑫, 吴苏稼, 等. 骨形态发生蛋白在大段同种异体骨移植中的表达. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(4): 625-628.
- [5] Jones AL, Bucholz RW, Bosse MJ, et al. Recombinant human BMP-2 and allograft compared with autogenous bone graft for reconstruction of diaphyseal tibial fractures with cortical defects. A randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg Am*, 2006, 88(7): 1431-1441.
- [6] 金格勒, 王武昌, 曹力, 等. rhBMP-2/异体骨复合骨应用于兔腰椎植骨融合的实验研究. *中华创伤骨科杂志*, 2006, 8(12): 1165-1168.
- [7] Yeung HY, Lee SK, Fung KP, et al. Expression of basic fibroblast growth factor during distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res*, 2001, (385): 219-229.
- [8] Presta M, Dell'Era P, Mitola S, et al. Fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor system in angiogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2005, 16(2): 159-178.
- [8] Komaki H, Tanaka T, Chazono M, et al. Repair of segmental bone defects in rabbit tibiae using a complex of beta-tricalcium phosphate, type I collagen, and fibroblast growth factor-2. *Biomaterials*, 2006, 27(29): 5118-5126.
- [9] Wang JS, Aspenberg P. Basic fibroblast growth factor increases allograft incorporation. Bone chamber study in rats. *Acta Orthop Scand*, 1994, 65(1): 27-31.
- [10] 李峰, 赵信义, 吴军正. 异体脱矿骨复合碱性成纤维细胞生长因子修复骨缺损的实验研究. *中国修复重建外科杂志*, 2005, 19(6): 431-434.
- [11] Mott DA, Mailhot J, Cuenin MF. Enhancement of osteoblast proliferation in vitro by selective enrichment of demineralized freeze-dried bone allograft with specific growth factors. *J Oral Implantol*, 2002, 28(2): 57-66.
- [12] Peidro L, Segur JM, Poggio D, et al. Use of freeze-dried bone allograft with platelet-derived growth factor for revision of a glenoid component. *J Bone Joint Surg Br*, 2006, 88(9): 1228-1231.
- [13] 张晔, 曾炳芳, 张长青, 等. 富血小板血浆对体外培养骨髓间充质干细胞增殖及成骨活性的作用. *中国修复重建外科杂志*, 2005, 19(2): 1092-1113.
- [14] 雷磊, 廖威明, 盛璞义, 等. 重组 PGL32 转化生长因子 B1 基因转染兔骨髓基质干细胞体外诱导向软骨细胞分化的实验研究. *中国修复重建外科杂志*, 2006, 20(2): 1342-1348.
- [15] Klaushofer K, Peterlik M. Pathophysiology of fracture healing. *Radiology*, 1994, 34(12): 709-714.
- [16] 赵广民, 刘强, 孙振军, 等. 重组转化生长因子- β 复合同种异体骨移植修复骨缺损的实验研究. *中国骨伤*, 2001, 14(5): 277-278.
- [17] Wang DS, Miura M, Demura H, et al. Anabolic effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 on osteoblasts are enhanced by vascular endothelial growth factor produced by osteoblasts and by growth factors produced endothelial cells. *Endocrinology*, 1997, 138: 2953-2962.
- [18] Horta BA, Cirino JJ, de Alencastro RB. Dynamical behavior of the vascular endothelial growth factor: biological implications. *Proteins*, 2007, 67(3): 517-525.
- [19] 邹平洲, 曾炳芳, 张先龙. 血管内皮细胞生长因子在异体皮质骨移植修复骨缺损中的作用. *中国修复重建外科杂志*, 2005, 19(8): 593-596.
- [20] Burkus JK. Surgical treatment of the painful motion segment: matching technology with indication. *Spine*, 2005, 30(16 Suppl): 7-15.
- [21] Peng H, Usas A, Olshanski A, et al. VEGF improves, whereas sFlt1 inhibits, BMP2-induced bone formation and bone healing through modulation of angiogenesis. *J Bone Miner Res*, 2005, 20(11): 2017-2027.
- [22] Peng H, Wright V, Usas A, et al. Synergistic enhancement of bone formation and healing by stem cell-expressed VEGF and bone morphogenetic protein-4. *J Clin Invest*, 2002, 110(6): 751-759.
- [23] Kilian O, Alt V, Heiss C, et al. New blood vessel formation and expression of VEGF receptors after implantation of platelet growth factor-enriched biodegradable nanocrystalline hydroxyapatite. *Growth Factors*, 2005, 23(2): 125-133.
- [24] Ma T, Gutnick J, Salazar B, et al. Modulation of allograft incorporation by continuous infusion of growth factors over a prolonged duration in vivo. *Bone*, 2007, 41(3): 386-392.
- [25] 刘强, 赵广民, 陈君长. 冷冻异体骨加 TGF- β 1 和 bFGF 复合移植修复骨缺损的研究. *实用手外科杂志*, 2000, 14(1): 21-24.
- [26] Salkeld SL, Patron LP, Barrack RL, et al. The effect of osteogenic protein-1 on the healing of segmental bone defects treated with autograft or allograft bone. *J Bone Joint Surg Am*, 2001, 83(6): 803-816.
- [27] Winn SR, Hu Y, Sfeir C, et al. Gene therapy approaches for modulating bone regeneration. *Adv Drug Deliv Rev*, 2000, 42(1-2): 121-138.
- [28] 黄师, 顾洁夫, 徐振华, 等. 重组同种异体皮质骨修复大段负重骨缺损的组织计量学研究. *武汉大学学报: 医学版*, 2004, 25(3): 295-298.
- [29] 陈庆, 顾洁夫, 蔡林. 重组复合异体冻干骨修复节段性骨缺损的实验研究. *中国修复重建外科杂志*, 2003, 17(1): 5-8.
- [30] 姜文学, 曹现林, 徐东明, 等. 诱导性人工骨膜复合异体骨移植修复兔桡骨缺损. *中华骨科杂志*, 2006, 26(5): 336-341.

(收稿日期: 2008-07-15 本文编辑: 连智华)