

## 综述 ·

## 促进骨折愈合方法的研究近况

冯建刚 张静 陈百成

河北医科大学第三医院(石家庄 050051)

骨折愈合是一个影响因素众多、极其复杂的生理过程。近年在探讨促进骨折愈合方法及机制方面的研究取得了令人瞩目的进展。

1. 骨生长因子及诱导成骨 骨折愈合是通过爬行替代还是骨诱导来完成多年来一直存在分歧。Urist (1965) 将脱钙骨植入肌肉内,成功地诱发异位成骨,并预言脱钙骨中含有一种特殊蛋白,可以诱导血管周围游走的间充质细胞转化为骨系细胞,该蛋白称为骨形态发生蛋白(BMP)。随后于 1982 年从牛骨中提纯了 BMP(bBMP),并对生化等方面的特性进行了深入研究,从而阐述了骨折愈合新理论——诱导成骨。Chalmers 等<sup>[1]</sup>提出诱导成骨三要素:(1) 诱导刺激物——BMP;(2) BMP 的靶细胞——间充质类细胞;(3) 有利于骨生长的血供环境。继 Urist 之后已从人及许多动物骨组织中提纯了 BMP。实验表明正常骨组织中 BMP 主要位于骨胶原纤维、骨膜及骨髓基质中<sup>[2]</sup>。BMP 还存在于小鼠及人的骨肉瘤组织中,但软骨肉瘤中却没有测到 BMP 的存在<sup>[3]</sup>。临床应用 BMP 修复骨缺损先后有成功报道<sup>[4,5]</sup>。然而 BMP 在骨内含量极微,约 1mg/kg 湿骨,且在体内迅速弥散、降解<sup>[6]</sup>,因此仅用 BMP 修复骨缺损用量太大<sup>[4]</sup>,使临床应用受到限制。如何以最小的 BMP 用量获取较大的成骨效应,成为被关注的问题<sup>[7]</sup>。近年许多学者将 BMP 与载体结合组成其释放系统(BMP/载体)来解决这些问题<sup>[8,9]</sup>。常用的载体有钙磷陶瓷人工骨、生物玻璃、石膏、胶原及纤维蛋白凝块等。BMP 赋予载体骨诱导能力,载体则充当 BMP 的释放系统,并为新骨的形成提供支架和场所。据 Urist 等<sup>[9]</sup>介绍 BMP/磷酸三钙植入肌肉内其诱导的新骨量比单用 BMP 大 12 倍,表明 BMP 借助载体缓慢释放,不断作用于靶细胞,诱导形成更多新骨。此外 BMP 基因重组蛋白的研究也受到重视<sup>[10]</sup>。有关 BMP 应用方式,除手术切开植入外,近有学者将 BMP 与成纤维细胞因子(FGF)复合物经皮注射,促进骨愈合。这些新的组合及给药途径,将为临床应用带来积极影响。

(1)  $\alpha$ -转化生长因子( $\alpha$ -TGF):是一类功能复杂的蛋白多肽,具有多种生物活性和调节多种细胞生长、

分化作用,骨折后 24 小时血肿中即可出现。浸润在血肿中的皮质骨——骨膜界面由于受到  $\alpha$ -TGF 的作用,出现骨膜增生和膜内成骨现象。在软骨痂形成期出现  $\alpha$ -TGF 基因表达高峰,刺激骨细胞中 DNA 的重组和合成,调节细胞增殖和骨基质合成。在体外  $\alpha$ -TGF 具有诱导正常骨产生软骨组织和软骨内钙化的作用。另外  $\alpha$ -TGF 通过对破骨细胞的影响,抑制骨吸收。有学者认为 BMP 是  $\alpha$ -TGF 超家族的一种<sup>[11]</sup>。

(2) 血小板衍生因子(PDGF):最初(1974)发现 PDGF 主要是由血小板释放以后又从正常组织、新生组织如骨髓和骨细胞中以及肿瘤组织如骨肉瘤中分离出来。对骨折愈合早期具有重要作用,诱导骨折周围细胞发生趋化反应,刺激骨细胞 DNA 和蛋白质合成,同时又能与其它生长因子或激素互相作用,既能促进骨形成,又能刺激骨吸收,对骨重建具有双向调节作用。

(3) 类胰岛素生长因子(IGF):是一族依赖生长激素的多肽,包括 IGF<sub>1</sub> 和 IGF<sub>2</sub>,分子量分别为 7600 和 7800,能由骨、软骨和其它多种组织合成,有胰岛素样作用,促细胞分裂。IGF 具有延长生长激素半衰期、调节其活性,刺激骨基质合成,促进骨生长的功能。

(4) 成纤维细胞生长因子(FGF):最初是从牛脑垂体分离出来,后来发现在人体组织包括骨基质中广泛存在,包括 aFGF 和 bFGF,分子量分别为 17000 和 16000,主要氨基酸顺序相似,并具有相似的生物活性。FGF 对血管内皮细胞有明显的增殖促进作用,是毛细血管增殖的刺激剂<sup>[12]</sup>,刺激骨折断端骨痂和骨移植周围毛细血管增生,提前血管重建,提高 BMP 和骨移植活性,对血运不良的骨折可能有积极影响。骨培养发现 FGF 能刺激 DNA 合成和细胞复制,促使骨细胞增多。FGF 刺激血管化和骨细胞复制的两种作用相结合,对骨折修复具有重要调节作用。Graves 等<sup>[13]</sup>将  $\alpha$ -TGF、PDGF、IGF、FGF 及 BMP 统称为生长因子。

(5) 骨衍生生长因子(BDGF):是多肽类 微球蛋白,分子量为 11800。在哺乳动物的细胞表面均可发现,是通过结合到其他生长因子和激素的受体上间接地对骨细胞起调节作用,使骨细胞数量增加并聚集。

体外培养发现 BDGF 能刺激合成骨胶原和 DNA<sup>[14]</sup>。

(6) 神经生长因子 (NGF): 是最早发现的生长因子, 其组织来源和分子量差别很大, 其中分子量为 11600 的 NGF 与骨折愈合密切相关, 对成骨细胞有促有丝分裂作用, 主要参与骨痂形成及骨化。

另外其它一些来自血细胞的衍生因子如白细胞溶菌素、肿瘤坏死因子、淋巴细胞毒素、干扰素等以刺激骨吸收为主<sup>[15]</sup>, 可能与骨折愈合塑形有关, 但对早期新骨形成不利。

2. 植骨术 骨移植是治疗骨缺损、促进骨愈合应用最广泛最成熟的方法, 随着基础研究的深入其地位将越发重要。

(1) 自体骨移植不但起到支架作用, 而且提供大量成骨细胞, 具有良好的成骨诱导性。有报道髓腔内大段自体皮质骨移植作为“生物髓内针”既有内固定作用, 又有成骨作用, 同时又是理想的生物降解材料, 在骨结构重建中具有独特的优越性。骨膜可人为塑形, 具有较强的成骨及诱导成骨能力, 主要用于骨与软骨缺损的修复。骨髓作为一个器官具有造血和成骨功能, 由于其特殊的流动性, 可经皮注射移植<sup>[16,17]</sup>。骨髓移植加速骨愈合的机制是: 带入了大量的成骨细胞; 提早启动骨愈合进程; 引起骨折愈合过程中 2 次损伤, 刺激机体释放更多的成骨活性物质。

(2) 同种异体骨存在免疫排斥反应, 通常采用煮沸、脱钙、深低温冷冻、冻干、辐照等方法处理保存, 与 BMP、生长因子及自体骨髓组成复合物移植, 已有实验及临床报道。胎儿骨无明显排斥反应, 且具有较强的诱导成骨能力。异种骨来源广泛, 关键是解决免疫排斥反应, 保留诱导成骨能力, 实验室研究已有尝试<sup>[18]</sup>。

3. 骨折部加压治疗 加压方法包括外固定架、加压钢板及加压钉等。Wolf 学说认为加压可以改善细胞功能, 增加局部血供, 促进骨折愈合。近年发现钢板弹性模量远高于皮质骨, 产生应力遮挡, 导致局部骨质疏松, 引起学者们广泛关注, 开始寻求与皮质骨刚度近似的接骨板及新的降解材料。80 年代国外学者观察到对骨折断端施以低频周期性载荷, 可以防止骨质疏松, 促进新骨形成, 有利于骨折愈合<sup>[19,20]</sup>。

4. 电刺激成骨 50 年代 Yasuda 研究了骨的电特性, 阐述了骨的压电现象, 证明在阴极周围有新骨形成。随后有许多实验及临床应用相继报告<sup>[21~23]</sup>。应用方式有全置入式、半置入式和非置入式, 采用的电流有恒定直流电、脉冲电流、电磁场及驻极体等。

5. 微量元素与骨折愈合 骨折后体内锌重新分布, 血清锌显著下降, 骨痂中锌含量增高。实验表明补锌的家兔其骨痂量、钙化时间及生物学性能均优于对照组。锌与骨折愈合过程中分化增殖的多种细胞所需酶的活性有关, 并参与骨盐形成。铁是细胞色素系统过氧化氢酶的重要组成部分, 有重要的输氧功能, 在供氧充足情况下骨样组织可直接成骨。锰参与胶原及粘多糖合成。铜在骨折愈合全过程均有高水平值出现。镁在骨折愈合早、中期活跃。镍在中、末期较活跃。而锶则始终呈现一峡谷状变化曲线<sup>[24]</sup>。

6. 药物治疗 左旋多巴能够间接促进内源性生长激素分泌, 利于骨盐形成与沉积<sup>[25]</sup>。骨折愈合刺激素是微生物的代谢产物, 骨折处局部注射, 刺激毛细血管增生, 复活骨折处细胞代谢, 促进骨折愈合。祖国医学认为气滞血瘀是骨折的病理核心, 活血化瘀药如红花、丹参等均有利于骨折愈合。

总之促进骨折愈合的方法不一, 机制各异, 尚没有一种理论可以解释骨折愈合的所有问题。近年在 BMP 的纯化及临床应用, 各类生长因子的调节机制, 成骨细胞的体外培养等方面成绩斐然, 相信不久的将来一定会有新的理论与技术问世, 服务于人类。

### 参考文献

1. Chalmers J, Gray DH, Rush J. Observations on the induction of bone in soft tissues. *J Bone Joint Surg (Br)*, 1975, 53 (1): 36
2. Yang LJ, Jin Y. Immunohistochemical observations on bone morphogenetic protein in normal and abnormal conditions. *Clin Orthop* 1990, 257: 249
3. Yoshikawa H, Rettig WJ, Lane JM, et al. Immunohistochemical detection of bone morphogenetic proteins in bone and soft tissue sarcomas. *Cancer*, 1994, 74 (3): 842
4. Urist MR, Kovacs S, Yates KA, et al. Regeneration of an enchondroma defect under the influence of an implant of human bone morphogenetic protein. *J Hand Surg*, 1986, 11 (3): 417
5. Johnson EE, Urist MR, Finerman GAM. Bone morphogenetic protein augmentation grafting of resistant femoral nonunions. *Clin Orthop*, 1988, 230: 257
6. Kawamura M, Urist MR. Human fibrin is a physiologic delivery system for bone morphogenetic protein. *Clin Orthop*, 1988, 235: 302
7. Hechman JD, Boyan BD, Aufdemorte TB, et al. The use of bone morphogenetic protein in the treatment of nonunion in a canine model. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1991, 73 (5): 750
8. Urist MR, Nilsson O, Rasmussen J, et al. Bone regeneration under the influence of a bone morphogenetic protein, beta-trical-

- ciumphosphate (TCP) composite in skull trephine defects in dogs. Clin Orthop, 1987, 214: 295
9. Urist MR, Lietze A, Dawson E. - tricalcium phosphate delivery system for bone morphogenetic protein. Clin Orthop, 1984, 187: 277
  10. Chen P, Carrington JL, Hammonds RG, et al. Stimulation on chondrogenesis in limb bud mesoderm cells by recombinant human bone morphogenetic protein 2B and modulation by transforming growth factor  $\beta_1$  and  $\beta_2$ . Exp Cell Res, 1991, 195 (4): 509
  11. Sampath TK, Coughlin JE, Whetstone RM, et al. Bovine osteogenic protein is composed of dimers of DP-1 and BMP-2A, two members of the transforming growth factor- $\beta$  superfamily. J Biol Chem, 1990, 265 (3): 13198
  12. Gospodarowicz D. Fibroblast growth factor. Clin Orthop, 1990, 257: 231
  13. Graves DT, Cochran DL. Periodontal regeneration with polypeptide growth factors. Curr Opin Periodontol, 1994, 1: 178
  14. 狄勋元. 生长因子对骨折修复的作用. 骨与关节损伤杂志, 1991, 6 (2): 120
  15. 史凤芹, 于世凤. IL-2、TNF- $\alpha$  和 PGF $_2$  对破骨细胞性骨吸收的作用. 中华骨科杂志, 1995, 15 (7): 458
  16. Healey JH, Zimmerman PA, Jessop AB, et al. Percutaneous bone marrow grafting of delayed union and nonunion in cancer patients. Clin Orthop, 1990, 256: 280
  17. Connolly JF, Guse R, Tiedeman J, et al. Autologous marrow injection as a substitute for operative grafting of tibial nonunions. Clin Orthop, 1991, 266: 259
  18. 孙玉鹏, 陆裕朴, 胡蕴玉, 等. TGF- $\beta$  复合牛松质骨载体修复节段性骨缺损的实验研究. 中华骨科杂志, 1996, 16 (9): 574
  19. Wolf JW JR, White AA, Panjabi MM, et al. Comparison of cyclic loading versus constant compression in the treatment of long-bone fracture in the rabbits. J Bone Joint Surg (Am), 1981, 63 (5): 805
  20. Rubin CT, Lanyon LE. Regulation of bone formation by applied dynamic loads. J Bone Joint Surg (Am), 1984, 66 (3): 397
  21. Yasuda I. Electrical callus formation by electret. Clin Orthop, 1977, 124: 53
  22. Zichner L. Repair of non-union by electrically pulsed current stimulation. Clin Orthop, 1981, 161: 115
  23. Bassett CAL, Mitchell SN, Gaston SR. Treatment of ununited tibial diaphyseal fracture with pulsing electromagnetic fields. J Bone Joint Surg (Am), 1981, 63 (4): 511
  24. 蓝文正, 刘国栋, 沙因, 等. 骨折愈合过程中微量元素含量的研究. 中华骨科杂志, 1989, 9 (3): 200
  25. Waisman M. Experimental study on healing of bone fracture using L-Dopa. Clin Orthop, 1979, 142: 244

(收稿: 1997-03-06; 修回: 1997-09-19)

## 生长因子在骨折愈合中的作用

薛向东 付作侠

安徽省淮南第二矿工医院 (淮南市 232052)

本文就血小板衍生生长因子 (platelet-derived growth factor, PDGF)、转化生长因子 (transforming growth factor-beta, TGF- $\beta$ )、骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP)、成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF)、白细胞介素-1 (interleukin-1, IL-1) 在骨折愈合中的作用机理综述如下。

1. 血小板衍生生长因子 (PDGF): PDGF 是促进创伤局部组织的连接, 增加胶原合成和增加局部应力的一种蛋白多肽分子<sup>[1]</sup>。PDGF 可以由血小板产生, 也可以由内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞、成纤维细胞及转化细胞产生。该因子存在于血清中, 能诱发间充质干细胞促有丝分裂。当骨折发生时, 血小板既粘附于髓腔内外毛细血管内皮下层的胶原上, 并且释放出大量的 PDGF, 后者能增强单核细胞和巨噬细胞的

游走性, 促进骨折局部成纤维细胞的大量增殖和分化, 协同其它生长因子促进骨折愈合<sup>[2]</sup>。Nash 等<sup>[3]</sup>将 80 $\mu$ g 的重组人血小板衍生生长因子 (recombinant human platelet-derived growth factor, rhPDGF) 注射到家兔的一侧胫骨骨髓内, 而对照组仅注射胶原蛋白, 结果发现注射 rhPDGF 4 周后胫骨骨髓腔的容量以及骨的密度都比对照组明显增加, 并且骨髓的储量也增多, 但对此尚没有进行定量分析和应力测试。

2. 转化生长因子 (TGF- $\beta$ ): 是一种高稳定、多功能的生长因子。它具有正常组织细胞的生理功能, 并参与许多炎症反应和组织修复。该生长因子主要存在于软骨细胞、成骨细胞和破骨细胞的早期间充质细胞中。在骨折修复初期, TGF- $\beta$  既从脱颗粒的血小板中释放出来, 也在软骨痂中由增生分化的细胞合成,