

# 内源性 BMP、TGF-β 在骨修复中的作用

王鹏程 张英泽

(河北医科大学第三临床医学院, 河北 石家庄 050051)

**【摘要】** 目的 研究内源性骨形态发生蛋白(BMP)、β 转化生长因子(TGF-β)的来源、分泌规律以及对骨修复的作用。方法 家兔 36 只, 每只动物左侧胫骨为对照侧, 环形切除胫骨中段骨膜长 3cm, 并于内侧行部分骨皮质剥脱术, 长 2.6cm, 厚 1mm, 不暴露骨髓腔。右侧为实验侧, 以同法处理后, 辅以钻孔达骨髓腔。术后 3 天及 1、2、4、6、8 周分别随机处死 6 只动物, 取双侧胫骨, 制作 5μm 厚的组织切片, 进行 BMP、TGF-β III 免疫组化染色。结果 BMP、TGF-β III 免疫组化染色显示, 对照侧染色阴性, 始终无骨痂形成。实验侧术后 3 天染色呈阳性反应; 术后 1 周内源性 BMP、TGF-β III 浓度达高峰, 成骨能力增强; 术后 6 周阳性细胞消失, 但随着骨重建过程增强, 骨基质染色较深。结论 骨损伤后内源性 BMP、TGF-β III 呈阶段性分泌, 且对骨损伤的修复起着重要作用。

**【关键词】** 骨修复 骨形态发生蛋白 β 转化生长因子 免疫组织化学

**The effect of endogenous BMP and TGFβ on bone repair** WANG Peng-cheng, ZHANG Ying-ze. *The Third Hospital of Hebei Medical University (Hebei Shijiazhuang, 050051)*

**【Abstract】 Objective** To explore the source and secretive regularity of endogenous bone morphogenetic protein(BMP) and Transforming growth factor β(TGF-β), as well as the effect of endogenous BMP and TGFβ on bone repair. **Methods** Periosteum in midpiece of left tibiae of 36 rabbits were resected circularly for a length of 3cm and medial cortices were partially stripped for a length of 2.6cm and a thickness of 1mm. The left tibiae of the animals with unexposed marrow cavity were used as control group and the right tibiae treated in the same as the left side only with the marrow cavity drilled were used as experimental group. Six rabbits were sacrificed randomly at the end of 3rd day and 1st, 2nd, 4th, 6th, 8th weeks after operation. Tissue slice obtained from bilateral tibiae were used for immunohistochemical staining reaction of BMP and TGFβ III. **Results** The immunohistochemical staining reaction of BMP and TGF-β III is negative in the left tibiae and there is no callus formation during the test. In the right tibiae, the staining reaction was positive at 3rd day after operation. At the end of the first week the concentration of BMP and TGF-β III reached the highest level and the capacity of bone formation is enhanced. Until 6 weeks the positive cells disappeared. With enhancing of bony reconstruction, the staining of bone matrix became strong. **Conclusion** BMP and TGF-β III are released at intervals after bone injury and they play a dominant role in bone repair.

**【Key Words】** Bone repair Bone morphogenetic protein Transforming growth factor β Immunohistochemistry

本实验探讨内源性 BMP、TGF-β III 的来源、分泌规律以及对骨修复的作用。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物模型** 健康大耳白兔 36 只, 体重 2.5~3kg, 雌雄不分, 分笼饲养。戊巴比妥钠 30mg/kg 静脉注射, 麻醉后无菌条件下手术。左侧胫骨为对照侧, 行内侧切口, 由胫骨结节至踝上显露胫骨内侧面, 环形切除胫骨中段骨膜长 3cm, 取其中部 2.6cm 于内侧行部分骨皮质剥脱术, 厚度为 1mm, 不暴露骨髓腔。右侧胫骨为实验侧, 同样方法处理后用直径 2.0mm 钻头钻 4 个孔, 达骨髓腔, 不穿透对侧骨皮

质, 孔间距为 0.6mm。生理盐水清洗伤口, 依次缝合, 术后不用外固定。

术后 3 天及 1、2、4、6、8 周分别随机处死 6 只动物, 取双侧胫骨, 10% 甲醛溶液固定 24 小时, 0.1M EDTA 脱钙 4 周, 梯度酒精脱水, 石蜡包埋, 5μm 厚组织切片贴附于预涂明胶的玻璃片上。

**1.2 免疫组化染色** 将组织切片脱蜡, 水化至 PBS, 0.3% 过氧化氢封闭非特异性抗原。PBS 浸洗玻片 3 次, 滴加第一抗体(即 1:50 鼠抗牛 BMP 单克隆抗体, 第四军医大学唐都医院, 西安; 1:100 小鼠抗人 TGF-β III 单克隆抗体, Dnco gene Science, USA),

37℃ 孵育 1 小时。PBS 浸洗玻片 3 次, 滴加第二抗体 (即生物素化羊抗鼠血清及 ABC 复合试剂, Vector Corp, USA), 37℃ 孵育 50 分钟。PBS 替代第一抗体为阴性对照 (见图 1)。滴加 DAB 显色剂 (10ml 双蒸馏水稀释 10 倍的 Tris+ 3, 3- 二氨基联苯胺盐酸盐 6mg+ 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>5μl), 显微镜监视显色。苏木精复染, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明后封片, 光镜观察。

## 2 结果

BMP 免疫组化染色显示, 实验侧术后 3 天胫骨钻孔边缘的多能间充质细胞胞质内可见浅染的棕黄色颗粒; 术后 1 周多能间充质细胞、环绕骨小梁的成骨细胞胞质内可见大量深染的棕黄色颗粒 (见图 2); 术后 2 周阳性细胞减少, 术后 4 周随着骨小梁增多和成熟, 阳性细胞更为减少; 术后 6、8 周骨重建过程增强 (见图 3), 骨基质内可见棕黄色颗粒, 未发现阳性细胞。对照侧各时期的胫骨切片均为阴性。

TGF-β III 免疫组化染色显示, 实验侧术后 3 天胫骨钻孔边缘的细胞间质内亦见浅染的棕黄色颗粒; 术后 1 周环绕多能间充质细胞、成骨细胞的间质内充满丰富的棕黄色颗粒, 胞质内未见棕黄色颗粒 (见图 4); 术后 2 周细胞间质内阳性颗粒减少; 术后 4 周阳性颗粒明显减少, 染色明显变浅; 术后 6、8 周骨重建过程增强, 骨基质内染色变深, 棕黄色颗粒增多。对照侧各时期的胫骨切片均为阴性。

## 3 讨论

McKibbin<sup>[1]</sup> 曾指出, 骨折后骨折端释放 BMP、TGF-β 等生物活性物质, 其来源为骨折端骨质坏死吸收所致。本实验研究表明在骨膜缺损情况下, 未

波及骨髓腔的单纯骨皮质损伤不能诱发局部骨组织分泌 BMP 和 TGF-β, 说明内源性 BMP 和 TGF-β 的分泌与骨髓腔有着密切关系。

本研究表明内源性 BMP、TGF-β 的分泌随着骨损伤的修复过程呈阶段性, 且对骨痂的形成及骨重建过程起着重要作用。免疫组化显示, 内源性 BMP 定位于多能间充质细胞、成骨细胞的胞质内, 而 TGF-β III 定位于环绕多能间充质细胞成骨细胞的细胞间质内, 胞质内棕黄色颗粒不明显, 这一现象的机理不明, 亦未见文献报道。

TGF-β 是骨修复的关键性调节因子, 并且存在其自身活性调节机制<sup>[2]</sup>, 外源性 TGF-β 植入促进骨缺损愈合也已有实验依据<sup>[3]</sup>。但外源性 BMP 或 TGF-β 制备困难, 来源有限, 其植入必须依赖于合适的载体, 否则难以发挥生物效应<sup>[4]</sup>, 如何有效地应用内源性 BMP、TGF-β 促进骨损伤的修复, 将是值得深入研究的课题。

(本文图 1~4 见插图 2)

## 参考文献

- [1] McKibbin B. The biology of fracture healing in long bones. *J Bone Joint Surg (Br)*, 1978, 60(2): 150.
- [2] Massague J. The transforming factor β family. *Annu Rev Cell Biol*, 1990, 6(9): 597.
- [3] Beck LS, Amento EP, Xu Y, et al. TGFβ<sub>1</sub> induce bone closure of skull defects: temporal dynamics of bone formation in defects exposed to rhTGFβ<sub>1</sub>. *J Bone Miner Res*, 1993, 8(7): 753.
- [4] Yang LD, Jin YD. Immunohistochemical observations on bone morphogenetic protein in normal and abnormal conditions. *Clin Orthop*, 1990, 257(8): 249.

(收稿: 1998 01 15 修回: 1998 04 22 编辑: 房世源)

## • 短篇报道 •

# 介绍一种自制钢丝扭紧钳

王学贤 王善法 王建然 李永和  
(五莲县人民医院, 山东 五莲 262300)

我们应用废弃的持针器或大血管钳改制钢丝扭紧钳, 自 1992 年应用于临床, 疗效满意、操作方便、省时省力, 现介绍如下。

### 1 器械制作

先将上述器械的钳口端截短, 一侧距钳口基部 1cm 处截断, 另一侧距钳口

基部 1.5cm 处截断。然后再将长头向对侧折成直角。

### 2 使用方法

用单钢丝捆扎时, 将绕过骨干的钢丝两侧放入钢丝扭紧钳口内, 扣合钳体顺时针方向旋转钳体即将钢丝扭紧。双股钢丝捆扎时, 可先将绕过骨干的钢丝

攀套入直角钩上, 另一端双股钢丝放入钳口, 扣合钳体旋即即可。

### 3 体会

改制此钳是废物利用, 而且制作简单、使用方便。应用时扣合钳体后能在强拉力下连续旋转钳体, 故扭紧强度大, 捆扎效果好。

(编辑: 李为农)