

## 神经肽与骨折愈合

王军海, 夏仁云

(荆门市第一人民医院骨科, 湖北 荆门 448000)

骨折愈合即断端的组织修复反应, 包括组织修复与纤维组织转化为骨组织等过程, 是在一系列细胞因子参与调控下的复杂过程。在临床实践中, 常可见到截瘫和颅脑损伤患者伴随的四肢骨折往往有大量骨痂过度生长, 骨折愈合过程明显快于没有中枢神经系统损伤的四肢骨折患者; 而伴有周围神经损伤的骨折患者骨折愈合明显延迟, 骨不愈合发生率较高。这些均说明神经系统在骨愈合中起重要的调节作用。神经肽是在骨折创伤时, 由感觉神经释放, 参与组织细胞增殖、分化的调控<sup>[1]</sup>。其中, 降钙素基因相关肽 (calcitonin gene related peptide, CGRP)、P 物质 (substance P, SP)、血管活性肠肽 (vasoactive intestinal peptide, VIP) 等在骨折愈合中的作用目前已越来越受到重视。

### 1 神经肽在正常骨组织中的分布

近年来, 随着组织脱钙和免疫组织化学技术进步, 一些研究已表明含有神经肽的肽能神经纤维主要分布于代谢活跃的组织, 如干骺端、骨膜和髓腔。支配骨膜的肽能神经呈网状分布于骨膜各层, 且骨膜的分布较骨干多。含 CGRP、VIP 的神经纤维主要分布于骨膜各层。VIP 纤维绝大部分分布于骨膜, 参与骨代谢调节作用, 在骨内主要分布于骨髓和骨骺, 其分布与血管无关。骨髓腔也受 SP 和 CGRP 免疫阳性神经支配, 在骨骺生长板骨软骨接头的肽能神经骨骺侧分布明显多于干骺端侧<sup>[2]</sup>。干骺端的成骨和破骨细胞可能是骨组织 CGRP 免疫阳性纤维作用的靶细胞<sup>[3]</sup>。

### 2 神经肽在骨折愈合中的表达

对于神经肽在骨折愈合中的表达, 主要是通过免疫组化方式检测神经肽在各种骨折模型骨痂中的分布及变化规律。Hukkanen<sup>[4]</sup>发现大鼠胫骨骨折后 1 周即有神经长入骨痂, 以 CGRP 阳性纤维多。在 34 周伴有神经损伤组的骨痂较单纯骨折多, 但骨痂内神经分布少, 骨痂机械强度低, 并且注意到在植骨愈合过程中, 只有移植骨块内有神经长入, 才能完成骨的爬行替代愈合过程。赖西南<sup>[5]</sup>在大鼠胫骨缺损模型中观察到, 在第 6 天骨膜和骨痂中 SP 和 CGRP 阳性的纤维增生, 15 d 到达峰值, 24 d 降至伤前, 且骨膜感觉神经肽纤维数量变化与骨缺损修复过程一致, 同时骨折组 SP、CGRP、VIP 血浆中浓度较对照组明显升高。邓永江<sup>[6]</sup>通过脊髓损伤大鼠胫骨骨痂中神经肽免疫组化研究, 提示骨折愈合早期神经肽呈强阳性表达, 而晚期骨痂中神经肽含量较低。

### 3 神经肽在骨折愈合过程中的作用

**3.1 促进软组织愈合** 骨折软组织的状况与骨折愈合密切相关, 因为软组织条件越好, 骨折处成骨过程越快。创伤时,

局部应用神经肽能加速软组织修复, 直接影响骨折愈合。Schaffer<sup>[7]</sup>在皮肤伤口治疗中, 应用脉冲电刺激感觉神经释放神经肽, 可减轻软组织水肿, 促进肉芽生长, 加速伤口愈合。而 Olerud<sup>[8]</sup>发现抑制伤口中内肽酶的活性, 减少神经肽降解, 可以增加损伤部血液供应, 有利于软组织修复。

**3.2 参与骨折的愈合过程** 实验研究表明, 在人长骨骨不连组织中几乎没有神经支配, 神经肽表达水平低下, 提示缺乏神经调控可能导致骨延迟愈合或骨不连<sup>[9]</sup>。而正常骨折愈合过程中新生骨痂及骨组织中均可见到肽能神经表达。Santavirta<sup>[10]</sup>研究发现骨折能强力诱导神经再生入骨折部位, 骨折后第 7 天, 骨痂内即可检测到 CGRP 免疫阳性的感觉神经纤维, 图像分析显示 7 d 后神经纤维增加, 骨折后第 21 天, CGRP 阳性纤维较正常对照组增加 3 倍以上, 这说明这些增生的感觉神经能产生可以影响骨折愈合浓度的神经肽, 从而参与骨折愈合过程。另外, 对交感神经损伤后骨代谢改变的研究发现, 失去交感神经支配后, 局部骨组织丢失, 骨吸收增加, 提示交感神经在骨折愈合过程中, 也具有重要作用。

### 4 神经肽在骨折愈合过程中作用机制探讨

**4.1 神经内分泌作用** 骨的形成是一个复杂的过程, 骨细胞受全身内分泌和局部自分泌、旁分泌的影响和调节, 骨组织中神经肽可作为直接调节骨细胞的因子, 神经系统对骨折愈合的影响可能由感觉神经纤维和自主神经节后纤维释放的神经肽介导<sup>[11]</sup>。Hukkanen<sup>[12]</sup>在细胞培养研究中发现神经肽 CGRP、SP、VIP 参与调节骨塑型, 成骨细胞和破骨细胞中有多种神经肽受体, CGRP 通过与破骨细胞上的降钙素受体结合, 有抑制骨吸收作用。而 Shih 等<sup>[13]</sup>发现它还能通过刺激骨干细胞有丝分裂或(和)骨先质细胞分化而刺激骨形成。在体内 CGRP 也能刺激骨形成。SP 在培养状态下, 通过 CGRP 相同的机制也能刺激骨细胞活性而刺激骨形成。而 VIP 在体外能有效刺激骨吸收, 在骨内以旁分泌作用于成骨细胞上亲和力的受体, 通过 cAMP 机制刺激骨吸收。VIP 作为一种骨代谢调节因子, 来自于交感神经元, 并且在骨内伴随神经纤维到达浅层的骨膜间及深层的哈佛氏管系统血管周围部分后, 从神经末梢释放, 在骨内局部形成高浓度, 从而诱导骨吸收。

**4.2 血管扩张与血管通透性血液供应是影响骨折最根本因素** 一切影响血液供应的因素, 都会直接影响骨折愈合, 血流在很大程度上受神经调控, 而一些神经肽具有血管调节活性。正常神经支配的骨折中 CGRP 阳性纤维分布广泛, 而 CGRP 是迄今为止发现最强的内源性扩血管肽<sup>[14]</sup>, 同时有刺激血管

生成的作用。骨折所致创伤对神经末梢的刺激以及轴突反射导致 CGRP、VIP、SP 等呈血管调节活性的神经肽释放,它作用于毛细血管后微静脉引起血管扩张,通透性增加,血浆外渗和水肿等炎性反应<sup>[15]</sup>。SP 扩张血管,增强通透性的机制可能与 SP 直接作用于血管平滑肌细胞,降低其张力,同时刺激内皮细胞释放一氧化氮(NO)有关。而 VIP 本身具有较强血管扩张作用。

**4.3 直接促进细胞增殖** CGRP、SP 可刺激血管内皮细胞增殖,诱导新生血管的生成。在骨折愈合血肿机化演进期,成纤维细胞起着关键作用。SP 可刺激成纤维细胞进入 S 期,还可作为受态因子推动处于 G1 期的成纤维细胞进入分裂前的感受态,SP 还可刺激骨祖细胞分化,具有加速骨形成的作用,且呈剂量依赖性<sup>[16]</sup>。神经肽促进细胞增殖的机制较复杂,可能神经肽与胞膜受体结合导致细胞内游离钙水平与 cAMP 浓度升高参与细胞增殖调控有关。神经肽可刺激修复细胞内自分泌的生长因子及其受体表达,这可能是神经肽参与细胞增殖调控的主要机制<sup>[7]</sup>。

**4.4 对免疫细胞功能的调节作用** 神经肽与免疫组织关系密切,巨噬细胞、肥大细胞等免疫细胞上均有神经肽受体,神经肽通过影响免疫细胞的生成活化以及生长因子的释放,参与骨折愈合的调节。SP、CGRP 可激活巨噬细胞诱导型 NO 合酶(iNOS)的活性,上调 iNOS 的基因和蛋白表达,增加 NO 生成,NO 可扩张血管,促进成纤维细胞增殖<sup>[17]</sup>。此外,CGRP 还可抑制骨髓干细胞在单核或巨噬细胞集落刺激因子的作用下分化为破骨细胞<sup>[18]</sup>。神经肽还可作用于肥大细胞,促进肥大细胞释放血小板衍生生长因子(PDGF)、细胞转化生长因子-(TGF-β)、成纤维细胞生长因子(FGF),而这些均已被证实为是骨折愈合过程中重要的调控因子。

**5 现状和展望**

尽管神经系统调节骨愈合的研究已有多年历史,但是有关这方面的研究仍较少。对于其作用机制,更是知之甚少。当前一些重要的临床论著关于神经肽与骨折愈合的研究很少涉及,多集中于创伤愈合方面,有必要加强这一领域的研究,以加深对骨折愈合理论的认识。另外,骨折愈合是一个极其复杂的过程,调节骨愈合的因子很多,而神经肽只是多种生长因子网络中的一员,这些因子之间如神经肽与骨形态发生蛋白、血管内皮细胞生长因子等的作用有何联系,相互作用如何,还有待于今后的深入研究。另外,骨不连是临床一大难题,神经肽在骨折不愈合过程中的表达、分布规律如何,一些神经肽能否用于骨不连的防治,这将是下一步神经肽在重建外科领域研究的重点和方向。

**参考文献**

1 Averlock B. Inflammatory mediators release calcitonin gene-related pw-

ptide from dorsal root ganglion neuron of rat. *Neuroscience*, 2000, 98 (1):135-140.

2 Hara IF. Immunohistochemical and ultrastructural localization of CGRP-positive nerve fibers at the epiphyseal trabeculae facing the growth plate of rat femurs. *Bone*, 1996, 18:29-39.

3 Imai S. Efferent targets of osseous CGRP-immunoreactive nerve fiber before and after bone destruction in adjuvant arthritic rat. *J Bone Miner Res*, 1997, 12:1018-1027.

4 Hukkanen M. Innervation of bone from healthy and arthritic rat by substance and calcitonin gene related peptide containing sensory fibers. *J Rheumatol*, 1992, 19:1252-1259.

5 赖西南. 神经肽与伤口愈合. *创伤外科杂志*, 2002, 4(5):55-58.

6 邓永江. 神经肽在大鼠脊髓损伤后胫骨骨髓中的表达. *临床与实验病理学杂志*, 2001, 17(6):512-514.

7 Schaffer M, Beiter T, Becker HD, et al. Neuropeptides P mediator of inflammation and tissue repair. *Arch Surg*, 1998, 133:1107-1116.

8 Olerud JE. Neutral endopeptidase and distribution in human skin and wounds. *J Invest Dermatol*, 1999, 112(6):873-881.

9 Malcangio M, Garrett NE. Nerve growth factor treatment increases stimulus-evoked release of sensory neuropeptides in the rat spinal cord. *Eur J Neurosci*, 1997, 9:1101-1104.

10 Santavirta S. Rapid proliferation of calcitonin gene-related peptide-immunoreactive nerves during healing of rat tibial fracture suggests neural involvement in bone growth and remodeling. *Neuroscience*, 1993, 54:969-979.

11 Kontinen YT. Neuropeptides and the puzzle of bone remodeling. *Acta Orthop Scand*, 1996, 67:632-639.

12 Hukkanen M. Rapid proliferation of calcitonin gene-related peptide-immunoreactive nerves during healing old rat tibial fracture suggests neural involvement in bone growth and remodeling. *Neuroscience*, 1993, 54:969-979.

13 Shih C, Lundgard A, Aalkjaer C, et al. Vasorelaxation in isolated bone arteries vasoactive intestinal peptide, substance P, calcitonin gene-related peptide and bradykinin studied in pigs. *Acta Orthop Scand*, 1997, 68:481-489.

14 Hukkanen M. Effect of sciatic nerve section on neural ingrowth into the rat tibial fracture callus. *Clin Orthop*, 1995, 311:247-257.

15 Fignini M. Substance P and bradykinin stimulate and pancreas. *AM J Physiol*, 1997, 272:785-793.

16 Katayama I. Substance P augments fibrogenic proliferation possible involvement of neuropeptide in tissue fibrosis. *Dermatol Sci*, 1997, 15(3):201-206.

17 Jeon HK. Substance P augments nitric oxide production and gene expression in murine macrophages. *Immunopharmacology*, 1999, 41(3):219-226.

18 Owan I. The role of CGRP in macrophages the presence of functional receptor and effect on proliferation and differentiation into osteoclast-like cells. *Bone Miner*, 1994, 24(2):151-164.

(收稿日期:2004-09-30 本文编辑:李为农)