

成骨生长肽的研究进展

Progress of research on osteogenic growth peptide

张文贤, 张晓刚

ZHANG Wen-xian, ZHANG Xiaogang

关键词 成骨生长肽; 综述, 辅导性 **Key words** Osteogenic growth peptide; Review, tutorial

生理状态下成骨生长肽(OGP)是主要以结合形式,即 OGP-OGP 结合蛋白(OGPBP)复合物的形式大量存在于人和哺乳动物的血清中,它由成骨细胞产生并作用于成骨细胞,维持成骨细胞的正常骨代谢^[1]。

1 成骨生长肽的检测及合成

竞争性酶联免疫吸附实验是有效检测体液中 OGP 的方法。测得的 OGP 为免疫反应性 OGP(irOGP)。从未经处理的血清测得的 irOGP 称之为稳定状态 irOGP,反映了体内未结合的 OGP;血清经过加热等处理后测得的 irOGP 称为总 irOGP,包括了结合与非结合的 irOGP。自行合成以固相叔丁氧羰基(BOC)系统按 OGP 天然序列从 C 端向 N 端逐个综合,后经氟化氢去除侧链保护基并从树脂上裂解下的肽,经 TSK 柱纯化,以毛细管电泳和高压液相色谱鉴定纯度达 99.2%。经电喷雾质谱法测定合成成骨生长肽(sOGP)分子量为 1 523.5 Da,与理论分子量 1 523.75 Da 基本相等;蛋白质 N 端全序列分析符合理论序列^[2,3]。

2 成骨生长肽的生物活性表达

成骨生长肽能促进成骨、刺激造血,在骨代谢、骨质疏松、骨折愈合、放疗、化疗及骨髓移植中有广泛应用前景。OGP 的促成骨作用有一个剂量效应关系,这与成骨细胞无需诱导因子诱导即能成骨有关。成纤维细胞成骨需诱导因子的支持^[4]。OGP 是以自分泌、旁分泌或内分泌方式起作用,一般情况下以不活跃状态存在于血液中,骨髓摘除后再生过程中 OGP 被激活,从血凝块中释放,与局部产生的肽一起调节成骨。实验表明,成骨细胞样细胞和成纤维细胞样细胞增殖能被抗 OGP 抗体所阻止,但也能被外源性 OGP 所恢复。依其摄入剂量的高低通过自身调节的反馈作用进行上调或下调,成骨细胞样细胞依对其不同的敏感性可使骨中 OGP 合成代谢起优先作用^[5]。OGP 在体外实验中能促进成骨细胞样细胞增殖,提高碱性磷酸酶的活性。有实验表明^[6],在体外 OGP 促成骨细胞增殖一定要适当的血清白蛋白(BSA)和血清中某些因子的协同作用。在体内实验中表现为骨形成和骨小梁密度的增加。杨春波等^[7]用 MTT 分析法检测重组 OGP(rOGP)的活性,表明 rOGP 具有促进成纤维细胞增殖的活性,且效果优于骨宁注射液。无论在体内体外,OGP 均表现为双向作用,随着 OGP 浓度的增加,作用逐渐增强,达到峰浓

度后,再进一步增加 OGP 浓度作用反而下降,甚至表现抑制作用。Brager 等^[8]观察到应用 sOGP 后全身和骨折端局部的 TGF- β_1 表达均增高,II A、II B 胶原及其他因子的表达增多,因此认为,OGP 是通过 TGF- β 系统发生作用,从而促进骨髓和骨痂中成骨源性细胞的增殖与分化。Gurevitch 等^[9]发现单剂外源性 sOGP 皮下注射 0.1 nmol 可诱导血清 OGP 缓慢直线上升,48 h 后,达到峰值,然后逐渐下降,并且它刺激血清 OGP 值的升高,也具有剂量依赖性。这种 sOGP 给药与血清 sOGP 含量之间的关系和低剂量时的正反馈自分泌、高剂量时负反馈自分泌有关。

2.1 OGP 与碱性磷酸酶(ALPase) 有研究表明 OGP 能显著增加细胞 ALPase 的活性,其浓度越高细胞的碱性磷酸酶活性也越高,但 OGP 对细胞增殖无影响^[10]。OGP 能明显促进成骨细胞样细胞向成骨细胞转化,促进成骨细胞样细胞分泌 ALPase^[11]。同时在研究中还发现不同 OGP 浓度对成骨细胞样细胞分泌 ALPase 有调节作用,OGP 在 10^{-12} ~ 10^{-8} M 浓度范围内,表现为低浓度时分泌抑制,而高浓度时分泌上调^[12]。

2.2 OGP 与血清骨钙素(BGP) 血中 BGP 水平与骨中 BGP 水平显示正相关关系。有人采用低钙饲料造成骨质疏松模型的 50 只 SD 大鼠,随机分为 5 组,每组 10 只,其中 B 组给予高剂量 OGP 治疗,共 12 周,测定血清 BGP,结果显示 OGP 治疗组 BGP 明显升高^[13]。OGP 能上调成骨细胞样细胞的骨钙素 mRNA 表达。Qu 等^[14]报道鼠骨髓培养 15~19 d 有 BGP mRNA 表达。王智兴等^[15]采用大鼠颅盖骨成骨细胞样细胞体外培养实验直到 28 d 才发现 BGP mRNA 表达。

2.3 OGP 与 I 型胶原 mRNA 表达 RT-PCR 法检测 I 型胶原 mRNA 表达的成骨生长肽能显著增加成骨细胞样细胞 I 型胶原 mRNA 表达。说明 OGP 使细胞 I 型胶原蛋白转录水平升高。OGP 不但能提高胶原蛋白转录水平,而且也能提高细胞的胶原蛋白翻译水平。细胞合成、分泌胶原增加为钙盐沉积提供有利条件^[15]。

2.4 其他 有关 OGP 成骨活性的表达,通过组织切片、扫描电镜以及透射电镜观察,均可发现应用 OGP 后骨小梁粗大、完整、连续,骨细胞多处于成骨相,胞质丰富,核/浆比例小,陷窝间隙小等特点。骨密度和骨矿含量,通过生物力学测定均表明运用 OGP 治疗者其含量比较高,骨折愈合强度高。

综上所述,成骨生长肽在明显促进成骨细胞样细胞增殖成熟的同时,促使其向成骨细胞转化,促进碱性磷酸酶分泌,

生物活性增加。增高细胞 I 型胶原 mRNA 和骨钙素 mRNA 的表达, 增加细胞胶原合成、分泌和钙盐沉积, 提高骨量, 增强骨密度, 促进成骨。近年来, 利用固相多肽合成成人成骨生长肽, 纯度高, 稳定性强, 活性表达充分, 体内外合成直接, 是目前较为理想的重组成骨生长肽 (rOGP)。鉴于 OGP 的研究刚刚起步, 进一步明确成骨生长肽成骨的确切作用机制, 多方面显示其生物活性的表达, 分析其存在、合成、分泌的内在机制, 使人体血清中 OGP OGPBP 这类多肽生长因子更加系统化、理论化。可望在骨折、骨质疏松、骨植入、骨髓移植方面具有广阔的临床实用价值。

参考文献

- 1 王海强, 黄耀添. 成骨生长肽. 国外医学: 创伤与外科基本问题分册, 1998, 19(2): 88-90.
- 2 李默漪, 施德源, 俞超, 等. OGP 的合成及药效学的实验研究. 中华医学杂志, 2001, 11(21): 27.
- 3 YU C, Zhou GM, Li BL, et al. Synthesis and biological activity of human calcitonin analogue. Acta Biochimica and Biophysica Sinica, 1999, 31(5): 553-557.
- 4 饶寒敏, 王智兴, 李群, 等. 成骨生长肽对体外培养成骨细胞样细胞的促成骨作用. 中华创伤杂志, 2001, 17(11): 675-677.
- 5 Greenberg Z, Gavish H, Mufson A, et al. Isolation of osteogenic growth peptide from osteoblastic MC3T3-E1 cell cultures and demonstration of osteogenic growth peptide binding proteins. J Cell Biochem, 1997, 65: 359-367.

- 6 费琴明, 崔大敷, 陈统一, 等. 合成成骨生长肽的体内外成骨活性. 生物化学与生物物理学报, 2001, 33(4): 415-420.
- 7 杨春波, 周凌云, 李冀宏, 等. MTT 分析法检测重组成骨生长肽的活性. 齐齐哈尔医学院学报, 2002, 23(4): 361-362.
- 8 Brager MA, Patterson MJ, Connolly JF, et al. Osteogenic growth peptide normally stimulated by blood loss and marrow ablation has local and systemic effects on fracture healing in rats. J Orthop Res, 2000, 18: 133-139.
- 9 Gurevitch O, Slavin S, Muhrad A, et al. Osteogenic growth peptide increases blood and bone and bone marrow cellularity and enhances engraftment of bone marrow transplants in mice. Blood, 1996, 88: 4719-4724.
- 10 王智兴, 李群, 朱亚萍. 成骨生长肽对成骨细胞样细胞的成骨影响. 中华骨科杂志, 2000, 20(1): 58-60.
- 11 李群, 王智兴, 朱亚萍. 成骨生长肽对新生大鼠颅盖骨成骨细胞样细胞影响的生化分析. 上海实验动物学, 2000, 20(2): 76-78.
- 12 李群, 王智兴, 朱亚萍. 成骨生长肽调节鼠胚颅盖骨成骨细胞样细胞酶活性的观察. 中国骨质疏松杂志, 2000, 6(4): 16-19.
- 13 施德源, 俞超, 陈统一, 等. 成骨生长肽促进大鼠骨量增加的作用. 上海医科大学学报, 1999, 26(3): 187-190.
- 14 Qu Q, Peralta Heape M, Kapanen A, et al. Estrogen enhances differentiation of osteoblasts in mouse bone marrow culture. Bone, 1998, 22: 201.
- 15 王智兴, 李群, 张, 等. 成骨生长肽对成骨细胞样细胞的分化和成骨作用. 上海第二医科大学学报, 2000, 20(3): 227-251.

(收稿日期: 2004-04-28 本文编辑: 王宏)

不稳定骨盆骨折内外固定的生物力学研究进展

Progress of biomechanical research on internal and external fixation for the treatment of unstable pelvic fractures

刘升, 郑琦, 毕大卫

LIU Yaosheng, ZHENG Qi, BI Dawei

关键词 骨盆; 骨折; 生物力学 **Key words** Pelvis; Fractures; Biomechanics

髋关节的解剖生物力学机制以及邻近软组织的结构十分复杂, 其复杂的运动包括同时在三维平面上的等于或小于 3° 的旋转和等于或小于 2 mm 的移位, 非直线性的运动轴线主要随着关节表面形态的变化而改变。髋关节的功能障碍和骨折移位的传统分型过于简单。髋关节有机系统的特殊功能是传递和分散机械力量, 临床的治疗在于提高附近软组织的稳定性、减少因不良位置及在髋骨基底水平使用固定器械而带来的应力及应变^[1]。

1 外固定支架

许多内外固定方法在紧急情况下应用均可减少不稳定骨盆骨折所伴发的骨盆出血; 骨盆的稳定限制了骨盆的扩张, 因此也限制了潜在的出血空间。Vrahas 等^[2]将 3 种内固定方法和 3 种外固定方法进行比较, 发现前路联合固定可对骨盆的扩张提供最大程度的控制, 然而这种选择在急诊应用中

是不切实际的。作者因此认为急诊情况下外固定是最可靠的控制骨盆扩张的方法。骨盆外固定支架的固定针可以在 2 个位置进行把持: 前上方(进入髂嵴)和前下方(进入髂臼的密质骨, 亦即在髂前上棘和髂前下棘之间进针)^[3]。Korovessis 等^[4]验证在前下位置 AO 支架固定的 B1 型骨盆骨折平均强度为 202.2 N/mm, Orthofix 为 203.2 N/mm, 而在前上位置 AO 支架固定平均强度为 143.9 N/mm, Orthofix 为 163.3 N/mm。实验表明对于 B1 和 C 型骨盆骨折前下位固定能明显减少髋关节的分离, 而两种实验支架之间的稳定性无明显差异。因此前下位进针固定是一种安全稳定的外固定技术。

骨盆损伤常伴大出血, 需临时外固定以获得止血效果。Simonian 等^[5]将 6 例新鲜冰冻骨盆标本在生物学负重下造模后按以下顺序分别行不稳定性检测: 完整的骨盆环, 单侧的耻骨上下支断裂, 并发同侧前后髋关节韧带的损伤, 并发髋棘韧带和髋结节韧带的损伤, 用 Gazn 骨盆复位钳及双棒外固定器固定。与完整的骨盆环相比, 此类损伤可造成耻骨支和髋