

PDGF 与 IGF 对骨形成的协同作用及机制

Synergic interaction and mechanism of the combination of PDGF with IGF on bone formation

郭涛 陈艺新

GUO Tao, CHEN Yixin

【关键词】 骨生成; 血小板源性生长因子; 胰岛素样生长因子 【Key words】 Osteogenesis; Platelet-derived growth factor; Insulin-like growth factor

骨的形成、发生、发展是一个极其复杂的过程,在众多的影响因素中,生长因子的局部调节发挥着重要的作用^[1]。同时,在任何时候,骨细胞的微环境中都存在不止一种生长因子,骨的形成是在多种生长因子相互作用的网络调节下实现的。因此研究骨生长因子之间的相互作用,对进一步阐明骨形成、发生机理,筛选有协同作用的生长因子联合应用修复骨缺损,治疗骨组织疾病,具有重要的理论和实践意义。现就 PDGF 与 IGF 的协同作用作以下综述。

1 血小板衍生性生长因子的化学结构与生物学活性

血小板衍生性生长因子(Platelet-derived growth factor, PDGF)是通过二硫键连接两个亚基(A、B链)组成分子量为 28-35KD 的多肽,其中 A 链 14-18KD, B 链 16KD, PI₉.8-10.2, A 链与 B 链高度同源。现已知至少有三种不同的 PDGF 相关分子,即 A-A, B-B 同二聚体和 A-B 异二聚体。PDGF 主要由巨核细胞合成,贮存在血小板中,其它细胞经适当刺激后,也能产生 PDGF,例如单核巨噬细胞、血管内皮细胞、成纤维细胞、成肌细胞等。一些肿瘤也产生 PDGF,如神经胶质瘤,胶质母细胞瘤等。研究发现,PDGF 受体(PDGFR)是 160-185KD 的糖蛋白,PDGFR 主要分布在间质或胶质来源的细胞:成纤维细胞、成骨细胞、软骨细胞、平滑肌细胞和神经胶质细胞等,在 3T₃ 细胞和其它结缔组织细胞表面,也有 PDGF 特异性受体^[2]。PDGFR 的两条链在细胞外都有 5 个免疫球蛋白的功能区,细胞内部都有酪氨酸激酶区域。

2 胰岛素样生长因子的化学结构与生物学活性

胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)是一类类似胰岛素原并具有胰岛素样生物活性的多肽,主要包括 IGF-I 和 IGF-II 两类,它们分别为拥有 70、67 个氨基酸的单链多肽,由 3 个双硫键交叉连接而成,分为 A、B、C 和 D 四个区。过去认为肝脏是合成 IGF 的唯一器官,近年研究证实,许多组织、细胞在不同的发育阶段都有 IGF-I 和 IGF-II 的表达。IGF 既具有胰岛素样作用,又可促进细胞分化和增殖,在人和其它脊椎动物的生长和发育过程中起着重要作用,生长激素对机体生长的影响就是通过 IGF-I 来介导的。在血浆

和各种生物体液中,IGF 通常与结合蛋白结合成复合物的形式存在,即 IGF 结合蛋白(IGFBP)。现正分离出 6 种功能不同的 IGFBP,命名为 IGFBP-1 到 IGFBP-6, IGFBP 对决定 IGFs 在体内的生物效应和生物活性方面起着关键作用。IGF 是通过细胞表面受体而起作用的,IGF 受体是含 4 个亚单位的糖蛋白,根据结构及功能的不同,也分为两类,即 IGF-I 受体和 IGF-II 受体,IGF-I 和 IGF-II 有相似的结构和体外活性,但体内生物学效应却不相同。在生长过程中起重要作用的是 IGF-I 受体^[3]。

3 PDGF 与 IGF 单独对骨的影响

3.1 PDGF 单独对骨的作用 PDGF 对所有起源于中胚层的细胞均有致丝裂原活性,PDGF 能诱导细胞合成 DNA,激活酪氨酸激酶,增加释放花生四烯酸和 PGI₂、PGE₂ 活化腺苷酸环化酶,活化丝氨酸/苏氨酸激酶,诱导基因转录和细胞表面特性改变。Saygin 等^[4]通过实验证实:PDGF 可调节体外培养成骨细胞中某些基因的表达,从而刺激细胞增殖,促进细胞培养中的胶原和非胶原蛋白的合成。并可促使颅骨细胞培养中的胶原和非胶原蛋白合成,而胶原蛋白和非胶原蛋白的产生对骨基质的形成和矿化有一定作用。此外,PDGF 还刺激小鼠颅骨合成前列腺素从而导致骨吸收作用。

PDGF 的另一特征为:低浓度时即可对中性粒细胞、成纤维细胞和平滑肌细胞产生趋化作用,而其它因子无此作用。这使 PDGF 对骨折愈合早期有重要作用。Fronun 等^[5]将 PDGF 应用于牛骨干缺损修复中,而对照组仅使用甲基纤维素凝胶载体,结果发现 PDGF 的使用可加速骨基质生长速率,并可提高骨密度,其骨痂体积比对照组明显增加。Howes 等^[6]认为:PDGF 具有促进脱钙骨诱导成骨和成软骨作用,且只需一次给药即可诱发相应效应。

3.2 IGF 单独对骨的作用 骨骼中的 IGFs 的一部分来源于成骨细胞和基质细胞的自身合成。此外,矿化的骨组织可以俘获和储存血液循环中的非骨骼系统产生的 IGFs。IGFs 储存在骨基质中,在骨吸收过程中,IGFs 释放出来,刺激成骨细胞的增殖和分化。Okazaki 等^[7]发现体外培养的正常人成骨细胞样细胞可持续表达 IGF I mRNA 和 IGF II mRNA。同时在软骨形成阶段,幼稚软骨细胞、成骨细胞均有 IGF-I、IGF-

II mRNA 的表达。

Hock 等^[8]将 1~100 nm 浓度的 IGF- I 加入胎鼠颅骨培养液中, 24 h 后发现: 骨基质增加了 45%~50%, 骨前细胞增加了 8 倍, 成骨细胞增加了 4 倍, 骨膜成纤维细胞增加了 2 倍, I 型前胶原 mRNA 的稳态水平也增高了。IGF- I 不仅对成骨细胞具有促进增殖分化作用, 而且还可作用于骨原细胞, 刺激其 DNA 合成, 增加有功能性成骨细胞数量和促进骨基质形成, 但 IGF- I 作用于前成骨细胞和已具有分化能力的成骨细胞的机制是不同的。在对软骨细胞的体外培养研究中发现, IGF- I 能刺激分化中的软骨细胞的增殖并合成软骨基质, IGF 还具有维持软骨细胞表型的能力, 在无血清培养中, IGF- I 能维持软骨细胞特异的 II 型胶原表达, 并抑制软骨基质的降解。

4 PDGF 与 IGF 的协同作用

随着对 PDGF 和 IGF 研究的不断深入, PDGF 和 IGF 的协同作用也越来越被人们所重视。田卫东等^[9]通过 PDGF 对人胚成骨细胞分化增殖影响的实验研究表明: PDGF 对正常及病理状态下的创伤修复有肯定作用, 并具有两个特点: ① PDGF 的作用依赖其浓度, 低浓度时主要起趋化组织、修复细胞的作用; 高浓度时主要促进细胞的增殖分化。② PDGF 与其它生长因子有协同效应。即单一的 PDGF 不能完善其对成骨细胞增殖和分化的调节作用, 还需其它因子相互协同。胡蕴玉^[10]认为在促进骨折修复中, 应用单一生长因子刺激新骨形成, 不一定能获得有意义的结果。因为即使一种生长因子能启动骨与软骨形成, 却不一定能使骨折修复达到最终愈合。而将数种生长因子适当配合应用, 有时可产生相加的效果。Hauschka 等^[11]认为在骨基质中存在众多的生长因子, 骨基质为生长因子提供了一个暂时储存库, 在骨折修复的过程中, 多种生长因子被释放出来, 它们相互作用刺激前成骨细胞分化增殖, 合成骨基质, 形成新骨。Bourque 等^[12]将新鲜骨折后的初始时段分为四个阶段, 运用免疫组化的方法, 检测了兔骨折在各个阶段中生长因子的含量, 发现 PDGF 于第一阶段在骨折部骨膜处出现, IGF- I 于第三阶段在骨折处软骨边缘出现, 这表明生长因子在骨折愈合过程中充当一种激动剂, 并相互协同促进骨折修复。

Lynch 等^[13]在猪胫骨缺损后, 通过甲基纤维素凝胶载体, 局部应用 PDGF 和 IGF- I, 分别于 4、8、12 周杀死动物, 检测发现, PDGF 与 IGF- I 联合组骨缺损的新骨骨痂的表面积、周径以及骨密度都大于单独使用 PDGF 和 IGF- I 组。Tanaka 等^[14]在体外培养鼠骨髓基质细胞中加入 PDGF 和 IGF- I, 通过³H-TdR 掺入量检测, 发现 PDGF 和 IGF- I 均能使骨髓基质细胞有丝分裂 DNA 合成增加, 但两者联合作用大于单独作用。PDGF 单独使用时抑制了骨钙素 mRNA 水平的提高, 相反 IGF- I 单独作用时提高了 I 型胶原的表达, 但对碱性磷酸酶 (ALP) 未见影响, 两者联合使用时, PDGF 削弱 IGF- I 对 I 型胶原的影响, 但 IGF- I 加强 PDGF 对骨涎蛋白表达的影响, 这种影响大于前者, 而且对成年兔和老年兔影响一致。因此作者认为 PDGF 与 IGF- I 联合将使骨髓基质细胞有丝分裂加强, 蛋白合成增加。

Giannobile 等^[15]将猕猴牙根造成缺损, 然后在破损牙根

局部应用于 PDGF 或 IGF- I 或联合使用 PDGF 和 IGF- I, 在第四周和第十二周分别作病理学切片检查, 发现 PDGF 和 IGF- I 联合使用可大大提高骨填充物以及组织附着物的含量, 分别比对照组高 41.6% 和 26.5%, 证实 PDGF 与 IGF- I 联合对牙周重建有重要意义。Gamal 等^[16]将 PDGF 和 IGF- I 联合用来培养牙周成纤维细胞, 并注入患者牙病部位, 取得了较好的疗效。田宇彬等^[17]将 PDGF 加入体外培养的成纤维细胞和大鼠肝贮脂细胞中, 发现当 PDGF 在无血清存在的情况下, 单独对人胚肺成纤维细胞和大鼠肝贮脂细胞并无显著的促进 DNA 合成作用, 而与 IGF- I 联合应用, 则可显著促进细胞 DNA 及胶原合成, 进一步证实了 PDGF 的作用是在与 IGF- I 等生长因子协同下发挥作用的。研究表明: 不论在体内还是体外, PDGF 和 IGF 联合可使许多细胞有丝分裂加强, 并可使更多的骨基质和骨胶原沉积, PDGF 还能在 IGF- I 参与下, 刺激软骨细胞, 合成蛋白多糖。

PDGF 与 IGF 联合对创伤愈合有良好作用。在创伤修复的细胞增殖期, PDGF 趋化成纤维细胞至伤部后, 可刺激停滞于 G₁/G₀ 期的成纤维细胞、神经胶质细胞、平滑肌细胞等进入分裂增殖周期, 即处于感受态, 在受到具“促进”作用因子后, 就可通过激活氨基酸运输, 液相内吞作用, 蛋白质合成、脂质合成及氨基葡聚糖合成提高胆固醇的利用等途径, 合成瘢痕组织, Kang 等^[18]将 PDGF 与 IGF 联合或单独应用于体外培养的兔屈肌腱细胞。结果表明, PDGF 与 IGF 联合应用, 促进了细胞的增殖与基质的合成, 有助于加速肌腱修复。Hinks 等^[19]将兔脊神经脱髓鞘后, 分别于第 2、5、7、10、14、21、28 d 测定脊神经脱髓鞘处生长因子的含量, 发现在脊神经再生中 PDGFmRNA、FGFmRNA、IGFmRNA 表达增强, 提示在神经再生中, 多种生长因子有协同作用。

对于 PDGF 和 IGF 协同作用机制的研究, Deule 等^[20]认为 PDGF 能使处于静止期 (G₁/G₀ 期) 的细胞转变为具有复制 DNA “潜能”的细胞, 而 IGF 则可在 PDGF 作用的基础上, 使细胞通过 G₀ 期、G₁ 期进入 S 期进行 DNA 复制, 继而发生有丝分裂。所以在细胞周期中, PDGF 作为一种致能因子控制着细胞的“感受态”(competence), 而后期“促进态”(progression) 则由进程因子 (如 IGF 等) 来完成。国内陈建庭等^[21]用流式细胞仪观察 PDGF 对体外培养胎鼠颅骨成骨细胞中发现, PDGF 可以增加成骨细胞 S 期 DNA 含量, 而 G₀/G₁ 期 DNA 相对减少, 同时透射电镜观察可见分泌期细胞增多, 胞浆和线粒体内钙颗粒明显增多, 均质性分泌小泡可增多。这一实验说明 PDGF 对成骨细胞起作用, 促使停滞于 G₀/G₁ 期的细胞进入 S 期, 刺激成骨细胞分化增殖。

Canalis 等^[22]认为 PDGF 刺激骨细胞后会使骨细胞对 IGF- I 的基因表达和最终的 IGF- I 蛋白水平产生一种低调水平, 当外源性 PDGF 与 IGF- I 共同作用于骨细胞后, 外源性 PDGF 所引起的骨细胞内源性的 IGF- I 产生的减少可使外源性的 IGF- I 发挥最大的作用。Canalis 在体外培养的骨细胞中加入 0.3~3.3 nM 浓度的 PDGF, 然后用 Northern 分析法检测椎体骨成骨细胞中的 IGF- I mRNA, 发现 IGF- I mRNA 表达水平减少, 这说明 PDGF 对成骨细胞中的 IGF- I 表达有抑制作用, 但对蛋白合成与细胞分化未见抑制影响。

而 Li 等^[23]认为 PDGF 和 IGF 均可激活 IGF- I 的基因表达启动子,从而促使 IGF- I 的基因表达增强、合成加强。

Rubini 等^[24]认为 PDGF 可以增加 IGF- I 受体 mRNA 的表达水平,同时增加了 3T₃ 成纤维细胞中 IGF- I 受体激动剂的活性,当 PDGF 与 IGF 同时应用时,外源性 IGF 的作用就会加大,从而使细胞增殖、DNA 合成增强。

Swantek 等^[25]认为,骨生长因子作用于骨的增殖分化,有赖于 ERK₂ 的激活(ERK₂ 即丝氨酸/苏氨酸激酶),而 ERK₂ 的激活则与 IGF-IR 有密切关系,而 PDGF 与 IGF- I 的联合则可提高 IGF-IR 的活性,有利于因子对细胞的作用。还有些人认为,PDGF 与 IGF 的协同作用的机理主要是 PDGF 抑制了 IGFBP-6 的合成,因为 IGFBP-6 可抑制 IGF 的合成及其对骨细胞分化增殖的影响,但 Gabbitas^[26]不赞成这种观点,他将 PDGF-BB 加入体外培养的胎鼠颅骨中,并用 Northern blot 分析法检测,未见 IGFBP-6 mRNA 的减少,因此他认为 PDGF 并不减少 IGFBP-6 的合成,并否认此种观点。

总之,PDGF 与 IGF 的协同作用机制不是单一的,而是通过多种途径实现的,但 PDGF 与 IGF 的协同作用是肯定的。如何将 PDGF 与 IGF 有效、合理地应用于临床工作,并充分发挥它们的协同作用,将是我们进一步研究和探讨的方向。

参考文献

- Vanderpla SA, Nijawide PJ. Cell-cell interaction in the osteogenic compartment of bone. *Bone*, 1998, 9:107-111.
- Heldin CH, Westermark B, Wasteson A, et al. Platelet-derived growth factor: A family of iso-forms that bind to two distinct receptors. *Br Med Bull*, 1999, 45:453.
- Jones JJ, Chemmens DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: Biological action. *Endocrine Rev*, 1997, 16:3.
- Saygin NE, Tak Y, Giannobile WV. Growth Factors regulate expression of mineral associated genes in cementoblast. *Journal of Periodontology*, 2002, 71(10): 1 591-1 600.
- Fronun SJ, Wallale S, Tarrow D. Effect of platelet-rich plasma on bone growth. *Int J Periodontics Restorative Dent*, 2002, 22(1):45-53.
- Howes R, Bowness JM, Grotendorst GR, et al. Platelet-derived growth factor enhance demineralized bone matrix induced cartilage bone formation. *Calcif Tissue Int*, 1998, 42:34.
- Okazaki R, Conover CA, Harris SA, et al. Normal human osteoblast-like cells consistency express genes for insulin-like growth factor I and II but transformed osteoblast cell lines donot. *J Bone Miner Res*, 1998, 10:788-795.
- Hock JM, Centrells M, Canalis E. Insulin-like growth factor I has independent effects on bone matrix, formation and cell replication. *Endocrinology*, 1998, 122(1):254.
- 田卫东, 王大章, 乔鞠, 等. 生长因子网络调节对骨形成的研究、PDGF 以人胚成骨样细胞增殖及分化的影响. *华西口腔医学杂志*, 1998, 16:348-350.
- 胡蕴玉. 骨生长因子促进骨愈合的研究及展望. *解放军医学杂志*, 1997, 22:4-6.
- Hauschka PV, Mavrakos AE, Iafrati MD, et al. Growth factors in bone matrix. *J Biol Chem*, 1998, 26:126.
- Bonrque WT, Gress M, Ham BK. Expression of four growth factors during fracture repair. *Int J Dev Biol*, 1993, 37(4):573-579.
- Lynch SE, Trippel SB, Finkelman RD, et al. The combination of PDGF-BB and IGF-1 stimulates bone repair in adult Yucatan micropigs. *Wound Rep Reg*, 1995, 2:182-190.
- Tanaka H, Liang CT. Effect of platelet-derived growth factor on DNA synthesis and gene expression in bone marrow stromal cells derived from dult and old rats. *J Cell Physiol*, 1995, 164(2):367-375.
- Giannobile WV, Hernodei RA, Finkelmom RD, ea al. Comparative effects of PDGF-BB and IGF- I individually and in combination on periodontal regeneration in *Macaca fascicularis*. *J Periodontal Res*, 1996, 31(5):301-312.
- Gamal AY, Mailhot JM, Granick JJ, et al. Human periodontal ligament fibroblast response to PDGF-BB and IGF-1 application on the tetracycline HCl conditioned root surfaces. *J Clin Periodontal*, 1998, 25(5):404-412.
- 田宇彬, 刘思良, 李定国, 等. 汉防己甲素对 PDGF 促细胞增殖效应的阻断作用. *中华医学杂志*, 1997, 77:50-53.
- Kang HJ, Kang ES. Ideal concentration of growth factors in rabbit's flexor tendon culture. *J Vnsei medical*, 1999, 40(1):26-29.
- Hinks GL, Frgklin RJ. Distinctive patterns of PDGF-AA, IGF-1, TGF- β , gene expression during remyelination of experimentally-induced spinal cord demyelination. *Moe-cell Neurosci*, 1999, 14(2): 153-168.
- Deuel TF, Huang JS, Proffit RT, et al. The influence of combined trophic factors on the success of fetal pancreas grafts. *Transplantation*, 1998, 68(4):491-496.
- 陈建庭, 李菊根, 金大地. 血小板衍生性生长因子促进成骨细胞 DNA 合成的实验研究. *中华外科杂志*, 1999, 37(7):409-411.
- Canalis E, Pash J, Gabbitas B, et al. Growth factors regulate the synthesis of insulin-like growth factor- I in bone cell culture. *Endocrinology*, 1993, 133(1):33-38.
- Li S, Baserga R. EGF and PDGF regulate the activity of the IGF-1 gene promoter. *Exp-Gerontol*, 1996, 31(5):195-206.
- Rubini M, Weriner H, Gandini E, et al. PDGF increases the activity of promoter of the IGF-I receptor gene. *Exp Cell Res*, 1995, 211:374-379.
- Swantek JL, Baserga R. Prolonged activation of ERK₂ by epidermal growth factor and other growth factors requires a function insulin-like growth factor- I receptor. *Endocrinology*, 1999, 140(7): 3 163-3 169.
- Gabbitas B, Canalis E. Growth factor regulation of insulin-like growth factor binding proteint expression in osteoblasts. *J cell Biochem*, 1997, 66(1):77-86.

(收稿:2002-07-25 修回:2002-11-27 编辑:李为农)

· 读者·作者·编者·

关于一稿两投和一稿两用等现象的处理声明

为维护我刊的声誉和广大读者的利益,凡核实属于一稿两投和一稿两用等现象者,我刊将择期在杂志上提出批评,刊出其作者姓名和单位,并对该文的第一作者所撰写的一切文稿 2 年内拒绝在本刊发表,同时通知相关杂志。欢迎广大读者监督。

本刊编辑部