

生长因子在髁突软骨生长改建中 作用机制的研究进展

胡娴洁 厉松 徐辉

【摘要】 下颌骨偏斜是十分常见的错牙畸形, 目前治疗手段单一且效率较低。随着基因工程的飞速发展, 利用生长因子诱导髁突软骨细胞的成骨作用, 从而调节两侧下颌骨的不对称已经成为可能。本文就能够刺激髁突软骨细胞成骨, 诱导髁突生长发育的生长因子及相关研究进展进行综述。

下颌髁突是下颌骨最主要的生长区之一, 其软骨内成骨在很大程度上影响着下颌骨的长度和高度, 其生长量与骨性Ⅱ类、Ⅲ类、高角、低角等骨性错牙畸形有显著相关性。髁突软骨的生长发育改建十分复杂, 涉及软骨细胞的增殖、分化、凋亡和胞外基质的合成、修复等过程, 并由多种局部生长因子在时间和空间上相互协调控制。

近年来, 随着基因工程的快速发展, 通过加入外源性生长因子或诱导生成内源性生长因子干预髁突的生长发育, 阻止或治疗骨性错牙畸形的研究逐渐受到大家的重视, 此方面的基础研究和动物实验陆续展开。能够刺激髁突软骨细胞的生长因子主要包括 TGF、IGF、bFGF、PTHrP、BMP-2、VEGF等。本文就生长因子诱导髁突软骨生长改建作用的研究进展进行综述。

1. 胰岛素样生长因子-I (Insulin-like Growth Factor-I IGF-I)

IGF-I是胰岛素家族中的一员, 其结构与胰岛素同源, 由机体肝脏分泌或肝脏外周组织合成, 对人和动物的生长发育有着重要的调节作用。它是第一个被确认对关节软骨具有自分泌(细胞产生因子作用于细胞本身)和旁分泌(细胞产生的因子作用于邻近其它细胞)调节作用的生长因子, 是强大的软骨细胞有丝分裂刺激剂。IGF-I在关节软骨生长发育中的作用有: ①刺激软骨细胞分裂增殖; ②促进蛋白多糖的合成, 抑制蛋白多糖的降解; ③刺激Ⅱ型胶原的合成; ④维持软骨细胞表型, 在软骨细胞的自稳态调节中起重要的作用; ⑤抑制软骨细胞凋亡。

IGF-I在长骨关节软骨修复方面的应用研究已十分广泛。近年来 IGF-I对于下颌骨髁突软骨细胞的作用也逐渐被重视, 在体外培养的大鼠、兔、人等各种髁突软骨细胞系中加入 IGF-I均可明显促进细胞的增殖和各种物质的合成分泌^[1]。并有实验证明 IGF-I对髁突软骨细胞的诱导作用要

强于对长骨软骨细胞的作用^[2]。除体外实验外, 活体动物实验也正在逐步展开。Suzuki等^[3]在成熟大鼠的下颌关节腔内注射外源性 IGF-I观察到明显的髁突软骨层增厚和软骨下成骨活跃, 使临床应用 IGF-I促进成熟下颌骨新骨形成成为可能。但外源性生长因子在关节腔内代谢较快, 难以长期维持较高的局部有效药物浓度。所以利用载体使 IGF-I在体内持续释放, 具有更高的实用价值。

2 碱性成纤维细胞生长因子 (Basic Fibroblast Growth Factor bFGF)

bFGF是成纤维细胞生长因子家族中的重要成员, 广泛存在于脑、垂体、肝、肾、骨、软骨、角质细胞、血管平滑肌细胞、成肌细胞、星形细胞等组织细胞中。bFGF是软骨细胞生长的必需物质, 这种因子可通过缩短软骨细胞的 G1 和 G2 期, 从而缩短细胞周期, 刺激软骨细胞的增殖, 并通过软骨内成骨, 使钙盐沉积, 转化成骨性结构, 形成新骨。同时它还是一种形态发生因子, 能使软骨细胞稳定在未定向干细胞阶段, 使增殖细胞稳定地向成熟软骨细胞分化, 保持软骨的分化能力^[4]。

有实验证实 bFGF对人下颌髁突软骨细胞的促增殖作用强于 TGF- β 1 和 IGF-I^[5], 并依此认为它是促下颌髁突软骨细胞增殖的主要效应因子。但 Madry等^[6]研究证明 bFGF虽然可以促进软骨细胞的增殖, 对蛋白多糖和胶原的合成却没有促进作用。体外实验中为了弥补 bFGF对促胶原合成作用的不足, 还需要添加其他因子, 以维持培养软骨细胞表型的稳定。此外, bFGF可促进成软骨细胞、骨髓间充质干细胞(BMSC)分化为软骨细胞, 也可直接刺激培养中的成软骨细胞的增殖和分化^[7]。但 bFGF的各种作用多具有双向性, 表现为低浓度互相促进, 高浓度互相抑制, 具体机制不明, 有待进一步研究。

3 转化生长因子- β (Transforming Growth Factor-beta TGF- β)

TGF- β s是一种具有多功能的蛋白质多肽, 它广泛存在于动物各种正常组织细胞以及各种转化细胞中, 不同种属具有高度同源性。目前已发现的 TGF- β s有五种, 其中 TGF- β 1最具有代表性, 对髁突的正常生长发育和诱导软骨细胞增殖有重要作用。它由关节软骨细胞产生并以潜在活性

基金项目: 北京市科技新星计划项目(NO. 2006B62); 北京市自然科学基金(NO. 3102015)

作者单位: 100050北京首都医科大学口腔医学院正畸科(胡娴洁现为 2007级研究生)

通讯作者: 厉松, E-mail: dentistli@263.net 电话: 010-67099220

的形式保存在软骨基质中,可刺激软骨细胞分裂增殖,维持软骨细胞的表型,并使软骨细胞钙粘连蛋白表达下降,调节细胞粘附活动^[8]。还可显著增加蛋白多糖和 II 型胶原的合成和分泌,增强碱性磷酸酶活性,改变蛋白多糖的糖基模式,使硫酸软骨素链加长,磷酸化程度更高,PG 更加致密和富有弹性,符合软骨的生理特性。

体外实验中 TGF- β 1 对软骨细胞的调节作用具有明显的双向性。TGF- β 1 在过低或过高浓度下均有抑制增殖和代谢的作用,仅在一定范围内表现为促进作用,并呈量效关系^[9-10]。血清浓度也可影响 TGF- β 1 作用。大多实验可证实 10% 的血清浓度条件下, TGF- β 1 对软骨细胞增殖的促进作用明显,而在低浓度的血清作用下,表现为抑制增殖效应^[11]。该现象可能提示 TGF- β 1 的促增殖作用有赖于血清中的其它成分介导。另外细胞分化程度,细胞密度等也可影响 TGF- β 1 的作用。

4 甲状旁腺相关蛋白 (Parathyroid Hormone-related Protein PTHrP)

PTHrP 是近年来发现的对软骨内成骨有重要调节作用的生长调节因子。它主要由软骨膜或早期软骨细胞产生,与 Ihh 信号分子构成一个旁分泌回路调节生长板软骨细胞的分化和骨骼形态发生,是 Ihh 信号分子协调软骨内成骨过程的重要环节。在软骨分化的晚期活动中,PTHrP 抑制软骨基质的矿化,促进细胞增殖,减少凋亡细胞,但不抑制 I 型胶原的细胞增殖和表达。体外培养中的髌软骨细胞加入 PTHrP 则可使 α 1-X 的表达水平下降 6 倍^[12],而合成 α 1-X 是软骨细胞分化成熟的标志,说明 PTHrP 可抑制软骨细胞成熟过程。此外,PTHrP 还可显著刺激软骨基质蛋白多糖的合成。但 PTHrP 与其他生长因子一样,其作用也受到浓度的影响,Green 等^[13]研究发现一定浓度的 PTHrP 可促使其受体高表达,但是浓度过高反而抑制其受体的活性,并且认为 10 nmol/L 为促进软骨细胞增殖的最佳浓度。

PTHrP 对于髌软骨细胞的作用与长骨略有不同。刘来奎等^[14]在无血清培养系统中加入 PTHrP 后,观察到培养的髌突体积明显增大,软骨膜区软骨前体细胞及增殖区软骨细胞增殖明显,厚度增加,而肥大软骨细胞层厚度亦明显增加,并且软骨细胞 (II 型胶原表达) 及肥大软骨细胞 (X 型胶原表达) 表型稳定。Suda 等^[15]通过 PTHrP 基因缺陷鼠研究发现:髌突软骨的体积较正常要小,但髌突软骨的组织学结构及细胞分化的层次依然存在 (即纤维层、扁平层及肥大大层软骨细胞),说明 PTHrP 突变后软骨细胞增殖减少,影响了软骨内成骨的进程,导致髌突体积减小。但在长骨发育过程中,PTHrP 基因功能障碍则会造成正常软骨的组织学结构及细胞分化的层次紊乱,软骨内成骨受到干扰导致长骨发育异常^[16]。

5 骨形成蛋白-2 (BMP-2)

BMP 由 UrSt^[7]于 1965 年发现并提出,是最有效的促进骨生长因子。其中 BMP-2 属于成素类生长因子,可诱

导间充质干细胞向软骨细胞分化,也能促进关节软骨细胞的增殖和特异性细胞外基质的产生,是促进软骨缺损愈合的有用的细胞因子。在体外实验中,Majumar 等^[18]已经证明 BMP-2 可以诱导骨髓间充质干细胞向软骨细胞方向分化及促进软骨细胞基质分化增殖。在动物体内实验中,Sellers 等^[19]也证实了重组 BMP-2 能在很大程度上促进新的软骨形成,优化表层关节软组织的组织表型,促进软骨下骨的修复,为表面软骨提供支持。但 BMP-2 仅是软骨生成的启动因子,对已分化的成骨细胞、软骨细胞则无进一步促进其增殖的作用。Ericsson 等^[20]对小鼠软骨生长板区软骨细胞的培养发现其作用于生长板静止区的软骨细胞时,可增加细胞数量和 DNA 的含量,且有剂量依赖性;相反作用于生长区的软骨细胞时,则无明显的改变。BMP-2 还可有效地促进胚胎和成人的关节软骨细胞合成蛋白聚糖和 II 型胶原,但 I 型胶原的含量没有增加,其合成蛋白聚糖和 II 型胶原的作用甚至比 IGF-1、TGF- β 1 更强。

6 血管内皮细胞生长因子 (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)

血管内皮生长因子 (VEGF) 是一种多功能的细胞因子,在发育中的正常细胞和成人组织中均可表达,具有增加微血管通透性和促进血管内皮细胞增殖、迁移诱导血管生成的作用。很长一段时间以来,VEGF 一直被看作内皮特异性因子。仅仅在近几年,人们才开始关注它在非内皮组织 (如软骨组织) 中的合成及作用。生长板软骨细胞生成的 VEGF 一方面通过旁分泌方式作用于血管内皮细胞,诱导软骨下骨中的血管进入到软骨肥大层;另一方面通过自分泌方式直接作用于软骨细胞,促进软骨细胞的增殖和分化,从而促进生长板软骨的形成和改建。髌突软骨细胞也能够合成 VEGF 及其受体 Flt-1 和 Flk-1,它们可能参与了髌突软骨自身的生长发育过程,并在咬合改变所导致的大鼠下颌髌突软骨的改建过程中发挥作用,其在软骨中的表达与软骨厚度成正向关系。Dai 等^[21]将 rAAV-VEGF (腺相关病毒介导血管内皮生长因子) 注射入大鼠下颌髌突关节囊内,发现髌突长度和宽度均有明显增加,提示 rAAV-VEGF 可被用于增加下颌长度,治疗骨性错牙畸形。

体内软骨细胞往往是受多种生长因子的共同调节,现已证实软骨细胞具有多种生长因子的受体。不同的生长因子可能作用于不同的生长周期,一种生长因子可以调节其他生长因子的表达和活性。大量实验证明,以上各种生长因子之间均存在协同作用,在适宜浓度范围内联合使用,对软骨细胞的增殖作用强于单个生长因子,如 BMP-2 对 TGF- β 的增殖作用就有明显的增强作用^[22]。但联合应用也有可能对代谢合成作用起到抑制作用,如 Loeser 等^[23]实验显示,bFGF、IGF-I 及 OP-1 联合运用于软骨细胞,bFGF 的过度表达会抑制 IGF-I 及 OP-1 的各种代谢合成作用。因此在联合应用时,应严格选择生长因子的种类、浓度等条件。

参 考 文 献

1 杨红梅, 罗颂椒, 李富明, 等. IGF-I 对体外培养的大鼠下颌髁突软骨细胞增殖活性的影响. 华西医科大学报, 2000 31(3): 365-366.

2 DeLatta M, Van den Hoff JW, Malina JC, et al. Growth stimulation of mandibular condyles and femoral heads of newborn rats by IGF-I. *Arch Oral Biol* 2004 49(3): 165-175.

3 Suzuki S, Itoh K, Ohyama K. Local administration of IGF-I stimulates the growth of mandibular condyle in mature rats. *J Orthod* 2004 31(2): 138-143.

4 Martin I, Vunjak-Novakovic G, Yang J, et al. Mammalian chondrocytes expanded in the presence of fibroblast growth factor 2 maintain the ability to differentiate and regenerate three-dimensional cartilaginous tissue. *Exp Cell Res* 1999 253(2): 681-688.

5 焦岩涛, 王大章, 韩文利, 等. bFGF, IGF-1 及 TGF-β1 对大鼠髁突软骨细胞增殖的影响. 中华口腔医学杂志, 2000 35(5): 346-349.

6 Madry H, Emkey H, Zurakowski D, et al. Overexpression of human fibroblast growth factor 2 stimulates cell proliferation in an ex vivo model of articular chondrocyte transplantation. *J Gene Med* 2004 6(2): 238-245.

7 Gruber R, Mayer G, Schulz W, et al. Stimulatory effects of cartilage derived morphogenetic proteins 1 and 2 on osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells. *Cytokine* 2000 12(11): 1630-1638.

8 Mouharat N, Lesur C, Thomas M, et al. Effects of transforming growth factor beta on aggrecanase production and proteoglycan degradation by human chondrocytes in vitro. *Osteoarthritis Cartilage* 2004 12(4): 296-305.

9 尚显文, 宁旭, 尹培荣, 等. TGF-β1 对体外培养兔软骨细胞增殖的研究. 贵州医药, 2004 28(6): 487-489.

10 Qi WN, Scully SP. Extracellular collagen modulates the regulation of chondrocytes by transforming growth factor-beta 1. *J Orthop Res* 1997 15(4): 483-490.

11 Bomediana K, Felisz N, Pujil JP. Cell-cycle-dependent expression of transforming growth factor beta type I receptor correlates with differential proliferative effects of TGFbeta1 in articular chondrocytes. *Exp Cell Res* 1998 243(1): 173-184.

12 Cheung D, Hillarby MC, Ayad S, et al. A novel cell culture model of chondrocyte differentiation during mammalian endochondral ossification. *J Bone Miner Res* 2001 16(2): 309-318.

13 Green J, Maor G. Effect of metabolic acidosis on the growth hormone/IGF-I endocrine axis in skeletal growth centers. *Kidney Int* 2000 57(12): 2258-2267.

14 刘来奎, 江宏兵, 殷新民, 等. 甲状旁腺相关蛋白对鼠胚髁突软骨细胞增殖和分化的调控. 华西口腔医学杂志, 2006 24(6): 206-209.

15 Suda N, Shibata S, Yamazaki K, et al. Parathyroid hormone-related protein regulates proliferation of condylar hypertrophic chondrocytes. *J Bone Miner Res* 1999 14(11): 1838-1847.

16 Kronenberg HM. Developmental regulation of the growth plate. *Nature* 2003 423(6937): 332-336.

17 Urist MR. Bone formation by autoinduction. *Science* 1965 150(698): 893-899.

18 Majumdar MK, Wang E, Morris EA. BMP-2 and BMP-9 promotes chondrogenic differentiation of human multipotential mesenchymal cells and overcomes the inhibitory effect of IL-1. *J Cell Physiol* 2001 189(3): 275-284.

19 Sellers RS, Zhang R, Glasson SS, et al. Repair of articular cartilage defects one year after treatment with recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). *J Bone Joint Surg Am* 2000 82(2): 151-160.

20 Erickson DM, Harris SE, Dean DD, et al. Recombinant bone morphogenetic protein (BMP)-2 regulates costochondral growth plate chondrocytes and induces expression of BMP-2 and BMP-4 in a cell maturation-dependent manner. *J Orthop Res* 1997 15(3): 371-380.

21 Dai J, Rabie AB. Gene therapy to enhance condylar growth using rAAV-VEGF. *Angle Orthod* 2008 78(1): 89-94.

22 Nishihara A, Fujii M, Sanpath TK, et al. Bone morphogenetic protein signaling in articular chondrocyte differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2003 301(2): 617-622.

23 Loeser RF, Paciore CA, Chubinskaya S. The combination of insulin-like growth factor 1 and osteogenic protein 1 promotes increased survival of and matrix synthesis by normal and osteoarthritic human articular chondrocytes. *Arthritis Rheum* 2003 48(8): 2188-2196.

(2009年 4月 30日收稿)

· 消息 ·

2010全国第十五届口腔医学学术会议暨全口义齿修复及牙病预防论坛征文通知

由中华医学会北京分会承办的全国第十五届口腔医学学术会议暨全口义齿修复及牙病预防论坛将于 2010年 8月 28日-9月 3日在海南省三亚市举办。可获国家级继续教育 I 类学分。征文内容: 口腔内科、口腔外科、口腔修复、口腔正畸、口腔美容、牙病预防及口腔修复。征文要求: 全文在 3000字以内(专题报道除外), 附 800字摘要(无摘要者, 论文汇编只收录题目)。投稿可采用寄送打印稿(信封注明“会议投稿”, 须附光盘)或发送电子邮件, 论文一律不退还。截稿日期: 2010年 6月 30日(以发稿地邮戳为准)。收稿地址: 北京东单三条甲七号北京医学会学术会务部, 高天雨同志收, 邮编: 100005。联系电话: 13901306906 E-mail: Gaotianyu2008@yahoo.com.cn 会议注册费人民币 1000元/人, 食宿自理。