维普资讯 http://www.cqvip.com

205-207 关节软骨. 骨关节病. 生长因子 (36)

第24卷 第2期 重庆医科大学学报 TGFs IGFs Vol.24 No.2
1999 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1999

生长因子与关节软骨

临床学院骨科 刘 强* 综述 安 洪 审校

R684.02 R681.302

中图分类号 R681.3

关节软骨是一种特殊的结缔组织，自身修复能力十分有限，遭受病损后，常以纤维软骨等结构和力学特性明显有别于正常软骨的组织来修复，最终导致骨关节病(osteoarthrosis，OA)。应用软骨膜、骨膜、软骨细胞、骨软骨块移植和软骨下骨钻孔等方法修复关节软骨缺损，虽取得一定效果，却依然无法完全替代关节软骨的生理功能。随着生长因子(Growth Factor，GFs)的分子构成、分布、作用机理和生物学效应的阐明，给关节软骨修复再生研究带来新的思路。GFs广泛存在于骨和软骨，以内分泌、旁分泌和自分泌方式，通过复杂的作用机制调节靶细胞的生命活动，对维持正常软骨的结构和促进软骨的修复再生有重要作用。现将有关研究综述如下：

1 转移生长因子(Transforming Growth Factor，TGFs)

最初发现于肿瘤组织中，能诱导非肿瘤细胞如大鼠成纤维细胞转化为肿瘤细胞。TGFs分为TGFα和TGFβ。TGFα与表皮生长因子(Epidermal Growth Factor，EGFs)有着同源的结构，生物效应类似。体外TGFα促成骨细胞增生，而骨组织中未发现TGFα，推测TGFα必须通过其他物质介导，才能在体内影响骨代谢[1]。关节软骨合成TGFβ，以无活性的形式贮存在基质，能被局部下降的pH和蛋白酶激活。TGFβ作用于间充质来源的细胞，促进软骨细胞增生、分化和蛋白质合成，兔关节软骨细胞培养物中、S期同步的软骨细胞持速表达TGFβ，G_0/G_1同步的细胞显示低水平的表达；细胞暴露于TGFβ(1ng/ml)24小时，增加了阳性细胞率，并不依赖S期细胞数，显示TGFβ可上调自身的表达，启动关节软骨细胞增殖，参与软骨基质的修复[2]。成年鼠软骨细胞与TGFβ培养，3H标记的胸腺嘧啶与DNA结合增多，电镜观察见粗面内质网增多[3]。胎牛血清培养的软骨细胞，在TGFβ作用下，G_2/M期的细胞数量增多，cAMP下降，DNA合成增加，加速了细胞周期进程，使更多细胞进入增殖阶段，有利于软骨组织的修复[4]。TGFβ增加Ⅱ型前胶原mRNA的转录，提高其表达，并不影响mRNA的半衰期和前胶原的合成过程[5]。兔关节软骨细胞合成胶原、非胶原蛋白依赖于TGFβ的剂量和作用时间。TGFβ增加软骨细胞摄取35S标记的硫酸盐，抑制白介素－1(interleukin，IL－1)介导的中性蛋白酶的产生和受体的表达，防止基质的破坏[6]。然而Walter E. Horton等[7]实验表明，TGFβ抑制胚胎鸡胸骨软骨细胞Ⅱ型胶原合成，成纤维细胞生长因子(Fibroblast Growth Factor，FGF)可增强此效应，二者通过调节DNA的起动和增强区，下调Ⅱ型胶原基因的表达。Rosen D.M.等[8]发现抑制软骨表型，软骨细胞形态也发生改变这些现象显示TGFβ对软骨代谢具有复杂的调控功能，并且可能与细胞类型、实验条件、TGFβ剂量和靶细胞分化阶段的不同有关。多次于鼠膝关节内注射TGFβ，发现滑膜肥厚，单核巨噬细胞润，骨赘形成，蛋白多糖(proteoglycans，PG)产量持续上升，与OA发生相关[9]。O，driscoll，S.W。发现TGFβ和琼脂组合最利于软骨形成，软骨表型，PG，Ⅱ型胶原得以表达，从而影响骨膜发生软骨，修复软骨缺损[10]。TGFβ在关节软骨缺损模型的修复中，表现了促进愈合的能力，为临床运用提供了依据[11]。

2 胰岛素样生长因子(Insulin－like Growth Factor，IGFs)

* 男，1969－10出生，研究生

维普资讯 http://www.cqvip.com

由两种具有相似结构和生物效应的多肽IGF－Ⅰ、IGF.Ⅱ组成。关节软骨细胞能合成、分泌IGF－Ⅰ，并且表达相应的受体。95％以上的IGFs与特殊蛋白(IDGFs binding proteins，IGFBPs)结合，少量游离于血清中，调节IGFs生物效应的关键点在于：(1)局部IGFs浓度，(2)局部IGFBPs浓度，(3)IGFs受体的亲和力和数量，(4)配体、受体结合后诱导的细胞反应。IGFs促软骨细胞复制DNA和有丝分裂。将微泵植入垂体切除的小鼠持续释放IGF－Ⅰ(1.02±0.15u/小时)。6天后肋软骨细胞与3H标记的胸腺嘧啶孵育，胸腺嘧啶结合率分别上升171％或239％，呈剂量依赖关系[12]。人胚胎和成熟软骨细胞与IGFs培养，IGF－Ⅰ促前者有丝分裂的效应低于IGF－Ⅱ($P<0.05$)；在促后者增殖的作用中，IGF－Ⅰ则高于IGF－Ⅱ($P<0.05$)[13]，实验结果肯定了IGF－Ⅱ主要影响胚胎细胞、IGF－Ⅰ着重调节成熟软骨细胞的观点。IGFs保持软骨的表型。成年牛关节软骨细胞对血清因子的反应是可逆的[14]：培养基不加血清时，PG合成率下降到很低水平，引起PG净损失；与血清培养时，PG合成率明显升高，血清因子加强软骨细胞PG合成主要归于血清中有足够的IGFs。关节软骨置于0.5％牛血清，加入IGF－Ⅰ使3H标记的羟脯氨酸结合率上升；换用10％胎牛血清，胶原合成率同样上升，甚至达到前者水平，结果也提示血清中IGFs有足够量使有效受体达饱和[15]。OA是常见的关节疾患，基质大分子特别是PG合成和降解平衡失调被认为是导致OA的重要原因。IGFs量、效的缺损与OA发生相关。生理情况下，IGFs保持着软骨基质的稳定。OA软骨明显病变处IGF－ⅠmRNA水平较相对正常部分高；关节液里IGF－Ⅰ明显增多，可高于正常值的两倍，已达刺激PG合成的水平，显示其修复软骨的能力[16,17]。

3 成纤维细胞生长因子(Fibroblast Growth Factors，FGFs)

FGFs由aFGF、bFGF组成，两者具有55％氨基酸序列的同源性，作用于相同的细胞受体，有相似的生物学特性。bFGF参与软骨的生理和修复过程，既是有丝分裂原，又是形态发生因子，软骨细胞连续培养会逐渐转变为成纤维样细胞，培养皿里加入10％胎牛血清，肋软骨细胞也会丧失特有类型；bFGF能保持软骨细胞的特性，细胞增殖九代后，在组织学、超微结构和基质代谢上仍与活体软骨相似[18]。bFGF的生物作用依赖于个体的年龄，软骨细胞分化阶段和其剂量。低量bFGF(3ng/ml)增加小牛软骨DNA合成，并伴有硫酸盐、羟脯氨酸结合率上升；较大剂量(30.300ng/ml)则抑制有丝分裂和底物结合率的下调；低量bFGF加速成熟软骨细胞释放PG，较大剂量之效应与对照相似[19]。随年龄增大，人关节软骨细胞对血清的增生反应下降，bFGF促DNA合成的效应也下降[20]。Wellmitz，G。等在兔关节内注射bFGF，通过软骨细胞增殖修复了软骨表浅裂伤[21]。Cuevas，P.使用Alzet渗透泵持续关节内投用bFGF、刺激软骨细胞增生、基质合成，使兔股骨髁面软骨内缺损修复[22]。上述修复组织在解剖上与正常软骨有何差异，由于观察时间较短，例数较少，无法推断更多有价值的结论，但至少显示在活体，bFGF可促使软骨损伤后的修复再生。最近，Fujisato，T.等利用附有软骨细胞的胶原作为bFGF的载体，置于裸鼠皮下，明显加快软骨生长，其表型得以表达。这些事实为临床运用bFGF提供线索。

4 骨形态发生蛋白(Bone Morphogenetic Proteins，BMPs)

人们已经重组了多种BMPs。它使未分化的间充质细胞(mesenchymal cell.MSC)向软骨细胞和成骨细胞分化，诱导过程人为地分为4步：(1)MSC趋化、聚积和增殖；(2)MSC向成软骨细胞分化；(3)软骨组织形成和成熟；(4)软骨内成骨及骨髓形成。完成该过程需要合适的微环境、诱导剂和靶细胞。骨髓祖细胞对BMP最为敏感。MSC的分化还受局部氧张力和力学状态影响：低氧和压缩态时，MSC向软骨表型分化；氧充分时，向骨细胞分化；受牵张力作用，则形成纤维细胞。Urist，M发现在体外无血液供应的组织培养时，BMP仅能诱导出软骨细胞及其基质，不产生钙化的组织；脱钙骨基质诱导滑膜细胞分化成软骨而不是骨组织。活

维普资讯 http://www.cqvip.com

体使用BMP时，常采用"载体＋BMP"的形式，一方面限制BMP快速扩散；另一方面为靶细胞提供附着、分化的空间。常用载体有胶原、脱钙骨基质、脱蛋白骨和羟基磷灰石等。BMP修复骨缺损已有较多报道，但如何使用BMP修复关节病损却未引起人们的重视。孙明学等[26]将"脱钙骨基质－BMP"复合物置于兔关节软骨全层缺损模型，12周后组织学、组织化学和细胞计数显示修复组织类似关节软骨，成功率优于单纯软骨生长板、软骨膜及骨膜移植。在适当载体系统中，BMP诱导透明软骨形成，修复关节软骨。

5 生长因子作用机制及相互影响

GFs不能直接进入细胞，必须与靶细胞膜上特异受体结合，将胞外信息传入胞内，作用于胞核，引起一定基因产物合成，完成GFs效应的表达。GFs与受体结合受多种因素影响：(1)靶细胞上受体的数目和亲和力；(2)特殊蛋白质影响配体、受体的结合；(3)GFs调节自身受体的表达，影响其他受体的表达。目前胞内信息传递、效应表达知之不多。软骨、骨组织基质储存了大量GFs，提供调节细胞增殖、分化和组织修复再生的缓冲空间。关节内注射bFGF、IL－1，两者协同导致糖胺多糖（glycosaminoglcan，GAG）丧失[26]；bFGF诱导IL－1受体，轻度加强IL－1抑制PG合成的效应[6]；bFGF与IGF－I则增加细胞对35S标记的硫酸盐的结合[27]；存有TGFβ时，bFGF使软骨细胞合成特有的PG和Ⅱ型胶原[28]。可见GFs相互作用错综复杂，需大量实验来查明其本质。

6 将来的方向

GFs的研究逐渐深入，为临床运用提供了可能。可以设想，应用GFs激发软骨组织再生修复能力，在解剖上修复软骨，恢复固有的功能。今后工作方向可能在：(1)进一步阐明GFs的作用机理及相互作用；(2)发现新的GFs；(3)动物实验和临床运用。有理由相信，GFs在修复软骨病损方面是大有作为的。

参考文献

1.Centrella,M. et al. FASEB 1987;1:312
2.Vivien.D.et al. Exp.Cell.Res. 1992;203(1):56
3.Livne,E. Acta. Basel. 1994;149(3):185
4.Vivien,D. et al. J.Cell.Physiol. 1992;150(2):291
5.Galera,P. et al. J.Cell.physiol. 1992;153(3):596
6.Chandraseknar,S. et al. Agents.Actions.Suppl. 1993;39:121
7.Horton.W.E. et al. J.Cell.physiol. 1989;141:8
8.Rosen,D.M. et al. J.Cell.Physiol. 1988;134:337
9.Van Beuninger,H.M. et al. Lab.Invest. 1994;71(2):179
10.O.Driscoll,S.W. et al. J.Bone and Joint Surg>76 A: 1994;1042
11.Hunziker,E.B. et al. Trans.Orthop.Res.Soc. 1994;19:236
12.Schoenle,E. Et al. Nature, 1982;296:252
13.Vetter,U. Et al. J.Clin.Invest. 1986;77:1903
14.Hascall,V.C. et al. Arch.Biochem.Biochphys. 1983;224:206
15.Guenther,H.L. et al. Experimentia.3 1982;8:979
16.Middleton,J.F. et al. Ann.Rheum.Dis. 1992;51(4):440
17.Schneiderman,R. et al. Arch.Biochem.Biophys. 1995;324:173
18.Kato.Y. et al. J.Cell Biology. 1985;100:477
19.Sah R.L. et al. Arch.Biochem.Biophy. 1994;308(1):137
20.Guerne,P.A. et al. Arthritis & Rheumatism. 1995; 38(7):960
21.Wellmitz,G. Et al. Exper.Pathol. 1980;18:282
22.Cuevas.P. et al. Biochem.and Biophys. Res.Commun. 1988;156:611
23.Fujisato,T. Et al. Biomaterials. 1996;17(2):155
24.Sato.K. Et al. Clin.Orthop. 1984;183:180
25.孙明学.等.中华骨科杂志 1996;16(9):578
26.Stevens,P. et al. Agents.Actions. 1991;34(1.2):217
27.Verschure,P.J. et al. Ann.Rheum.Dis. 1994;53(7):455
28.Inoue.H. et al. J.Cell.Physiol. 1989;138:329

(收稿日期 1997－09－17)