DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.01.039
第22卷第1期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 1
94 2000年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2000

综述

文章编号:1000-5404(2000)01-0094-03

TGF-β 对成骨细胞的作用

Effects of transforming growth factor β on osteoblasts

卢卫忠,唐康来 综述,杨 柳,吴梅英 审校 (第三军医大学附属西南医院骨科,重庆 400038)

骨组织是一个庞大的生长因子库。成骨细胞可合成分泌多种生长因子,转化生长因子β(Transforming growth factor β,TGFβ)是成骨细胞中含量较多的生长因子,一方面,成骨细胞本身可合成分泌TGFβ;另一方面,在成骨细胞的细胞膜上有TGFβ的特异性受体,TGFβ可作用于成骨细胞,调节其增殖和分化。成骨细胞是骨形成和修复的主要功能细胞,TGFβ与骨形成密切相关,在骨形成和修复过程起着十分重要的作用,因此,TGFβ对成骨细胞作用的研究有助于揭示TGFβ在骨生理过程中的作用可能为骨愈合的治疗提供新的手段。

1 骨组织中TGFβ的来源及其激活机制

骨组织中TGFβ来源于骨折时的血肿内血小板、炎性细胞(单核细胞和巨噬细胞)、成骨细胞和软骨细胞等,骨是TGFβ最大的组织来源和储存库。在鼠骨折模型中发现,TGFβ在骨折愈合的早期由血小板释放,在整个骨折愈合过程中则由软骨细胞和成骨细胞合成[1]。成骨细胞是骨组织中合成TGFβ的主要细胞,是骨组织中TGFβ的主要来源,成骨细胞又以自分泌的方式调节其自身的增殖、分化及代谢。骨组织中的TGFβ与其他组织中的TGFβ不同,它有两种潜活形式。新合成的TGFβ是无活性的复合物,其末端有25×10³u的可断裂片段即潜在性相关蛋白(Latency associated protein, LAP);此外还有一富含胱氨酸的蛋白与之相连,称之为潜在型TGFβ结合蛋白(Latency TGFβ binding protein, LTBP),它可能是骨基质中储存的结合位点[2]。在成骨细胞分泌的TGFβ中,$TGF\beta_1$占大多数,并且主要存在于骨基质中,TGFβ在发挥作用之前需被激活。

潜在型TGFβ激活的机制目前尚不清楚。可能有两种机制:一是潜在型TGFβ结合蛋白在中性pH环境中稳定,低pH环境中激活。在pH为3时,潜在型TGFβ被激活,完全释放出活性TGFβ。潜在型TGFβ可被破骨细胞激活,作为破骨细胞刺激因子的维生素A,能增强这种激活作用。其二是潜在型TGFβ在活性的纤维蛋白溶酶和组织蛋白酶D出现时,可被蛋白酶系统激活。由于成骨细胞能合成纤维蛋白溶酶原活化剂和纤维蛋白溶酶原活化抑制剂以及分泌组织蛋白酶,因此,成骨细胞可以调节潜在型TGFβ的活性。Pfeilschiffer等[3]发现,TGFβ降低纤维蛋白溶酶原活化剂的活性,而增强纤维蛋白溶酶原活化抑制剂的活性。活化的TGFβ本身也可调节潜在型TGFβ的活性。TGFβ是骨组织中多种生长因子之一,对成骨细胞有明显的刺激作用,作为一种诱导新骨形成的一种介质而发挥作用。

2 TGFβ对体外培养成骨细胞的作用

体外研究表明,TGFβ对成骨细胞的作用是非常复杂的。在相似的或不相同的研究模型中,得出了有争议甚至相反的结果。目前,TGFβ对成骨细胞增殖和分化的作用有3种结论。

2.1 TGFβ刺激成骨细胞增殖,但对成骨细胞的分化则没有作用

本结论主要从以下3类细胞模型系统中得出:第一类是从鼠骨组织中原代分离培养的细胞群,Canalis等[4]实验表明,取材于鼠颅骨和小鼠尾骨消化分离培养的成骨细胞,TGFβ能增加其DNA的合成,而对碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, ALP)活性无影响。在胎鼠骨组织中发现,TGFβ只刺激条件培养基中的成骨细胞合成DNA。第二类为鼠成骨细胞群,Ber等[5]运用有限稀释法在胎龄为21 d的鼠颅骨组织中克隆筛选出RCA11和RCB2细胞株,这两种细胞均具有成骨细胞的生物学特性,在TGFβ作用24~48 h后明显刺激RCB2细胞增殖而对RCA11细胞增殖无作用,且RCB2细胞呈非静止性生长。Ibbotson等[6]对MCT3T30E成骨样细胞株的研究表明,在有血清培养的条件下,低剂量的TGFβ增加DNA和胶原的合成,抑制ALP活性,并引起细胞形态学上明显变化,高剂量的TGFβ抑制胶原合成,对DNA合成没有作用;而在无血清的培养条件下,TGFβ对ALP表现为双相作用,高剂量抑制但低剂量增强ALP的活性,并且对胶原合成只有轻度的刺激作用。在鼠成骨样细胞系(ROS17/28),$TGF\beta_1$和$TGF\beta_2$均在转录水平降低骨钙素的产生。第三类是从人骨组织原代分离培养的细胞群,在正常人成骨细胞中,TGFβ无论是低剂量还是高剂量均增加DNA合成;Verhar等[7]发现TGFβ对正常人成骨细胞作用明显,在无血清培养24 h,细胞数量呈2倍增长。Lind[8]对人骨小梁细胞体外研究发现,$TGF\beta_1$刺激细胞迁移及增殖,且呈剂量相关关系,其中以$TGF\beta_1$在0.1 ng/ml浓度时游走性细胞数量增加4倍以上;然而Richard[9]利用相同的模型发现,纯化后的人$TGF\beta_1$对正常人成骨细胞却表现为双相作用。

2.2 TGFβ对成骨细胞增殖无作用但刺激其分化

Wergedal等[10]对来源于正常人肋骨的成骨细胞研究发现,TGFβ不影响其细胞增殖,但刺激其蛋白合成和增强ALP的活

作者简介:卢卫忠(1968.7),男,四川省垫江县人,学士,主治医师,主要从事生长因子对骨愈合作用方面的研究,发表论文2篇。电话:(023)72223629转2041

收稿日期:1999-10-01;修回日期:1999-12-09

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

性；Strong 等[11]进一步证实了除上述作用外，还发现 TGFβ 能增加来源于正常人肋骨的成骨细胞 I 型胶原表达。Ibbotson[12]对 ROS17/28 研究发现，TGFβ 降低其细胞增殖率，增加了胶原的产生和 ALP 活性，Noda 等[13]从 ROS17/28 和 UMR201 细胞株的实验证实，TGFβ 提高编码纤维结合素、I 型前胶原、骨桥蛋白、ALP 和骨连接素的基因转录水平。

2.3　TGFβ 抑制成骨细胞的增殖和分化

Linkhart 等[14]实验证实，TGFβ1 对单层培养的 MCT3TE1 细胞增殖及分化具有抑制作用；同样，在成骨肉瘤细胞株中也发现了相似的结果，TGFβ 不仅对增殖和分化均起抑制作用，同时也改变了该细胞的形态。Chiefltz[15]研究发现，TGFβ 抑制胎鼠颅骨成骨细胞骨源性分化和成骨细胞增殖。TGFβ 对成骨细胞的增殖、分化和代谢的作用出现了上述 3 种截然不同的结果，导致这些不同实验结果的因素归纳起来包括：①细胞模型不同，目前用于此研究的细胞模型分为 4 类：一是原代分离培养的成骨样细胞群，该细胞群离体时间短，生物学特性及成骨能力与体内相比具有很好的相似性；二是从正常组织中克隆传代的成骨样细胞株，它具有成骨细胞固有的生物学特性，细胞成分单一，与体内成骨存在一定差异；三是从肿瘤细胞中克隆传代筛选建立的成骨样细胞株，该细胞株增殖速度快，具有致瘤性，与体内成骨有较大差异；四是利用转基因技术建立的永生细胞株，该细胞多为非二倍体细胞，与体内成骨细胞生物学特性和成骨能力差异很大。不同类型的细胞其生物学及遗传学特性不同，导致其实验结果的不一致。②同一类型的细胞由于细胞来源、种属、取材部位及所选动物的发育阶段不同，其结果也可不一致。③培养条件不同，包括有细胞分离传代的方法、细胞接种的密度大小、培养基的不同选择、培养液中有无血清和其他相关因子存在等因素均可影响实验结果。④TGFβ 的来源与剂量，不同来源的 TGFβ 尽管具有一定的同源性，但仍有一定的结构和功能差异，可导致对成骨细胞的不同作用；另外，不同剂量的 TGFβ 对成骨细胞的作用机制不同，其实验结果也可能不一致。综上所述，TGFβ 对成骨细胞的作用存在着广泛争议，有待进一步研究。

3　TGFβ 体内成骨作用

体内研究表明，TGFβ 有较强的成骨和成软骨作用。Noda 等[16]于 1989 年首次运用外源性 TGFβ 直接注射鼠和兔的颅骨中发现，TGFβ 对骨形成具有明显促进作用，骨生成量明显增加。Marcelli 等[17]发现，注射在鼠股骨骨膜下的 TGFβ 诱导骨膜间充质细胞分化为成骨细胞和软骨细胞，并刺激这些细胞的增殖和具有骨及软骨特征性的细胞外基质蛋白的合成。从组织形态学上研究发现，TGFβ 改变骨膜的细胞构成和成骨细胞的结构，诱导矿化的骨形成。

4　TGFβ 对成骨细胞的作用机制

TGFβ 增强成骨细胞活性的机制目前仍不清楚。以往对鼠骨肉瘤细胞系（ROS17/2）的研究表明，TGFβ 通过核心因子 1（Nuclear factor 1，NF1）结合剂来增加 I 型胶原的基因表达[18]。这提示由 TGFβ 诱导的 I 型胶原基因转录的表达是通过 NF1 结合剂来调节的。同样，TGFβ 诱导原癌基因 c-jun 和 c-fos 表达增强，jun-fos 复合体对成骨细胞的增殖和分化起着重要作用，因此认为，在成骨细胞中，由 TGFβ 调节的基因至少有部分可能受 jun-fos 复合体的调节。而且，内分泌激素也调节 TGFβ 的作用。在小鼠颅骨培养的成骨细胞中，甲状旁腺激素（Parathyroid hormone，PTH）和 1.25(OH)$_2$D$_3$ 均增加 TGFβ 活性，但降钙素却降低 TGFβ 的活性。反之，TGFβ 也调节内分泌激素的作用。在鼠成骨样细胞（UMR106）中，TGFβ 增强雌激素诱导生长抑制剂的刺激作用和 ALP 的活性。另外，表皮生长因子（Epidermal growth factor，EGF）和成纤维细胞生长因子（Fibroblast growth factor，FGF）也调节 TGFβ 对成骨细胞的作用。TGFβ 对成骨细胞作用的确切机制尚需进一步研究。TGFβ 是目前所知的作用最为复杂和多样的生长因子，成骨细胞是骨形成过程中最重要的功能细胞，TGFβ 对成骨细胞的作用复杂，在相同或不同的模型中得出的结论有争议，甚至是相反的，深入地研究 TGFβ 对成骨细胞的作用，有助于进一步阐明 TGFβ 的成骨机制，为临床骨科合理应用 TGFβ 打下坚实的基础，仍需要做大量的工作。

关键词　转化生长因子β；成骨细胞
中图法分类号　R322.71；R329.21　　文献标识码　A

参考文献

[1] Joyce M E, Terek R M, Jingushis, *et al*. Role of transforming growth factorβ in fracture repair[J]. Ann N Y Acad Sci, 1996, 19(1): 107－123.

[2] Wakefield L M, Smith D M, Broz S, *et al*. Recombinant TGF-β is synthesized as a two-component latent complex that shares some structural features with the native platelet latent TGFβ1 complex [J]. Growth Factors, 1995, (1): 203－218.

[3] Pfeilschiffer J, Schmidt W, Naumann A, *et al*. Interactions between the plasminogen system, transforming growth factor beta and extracellular matrix in osteoblast-like cells[J]. J Bone Miner Res, 1997, (3): 436－440.

[4] Canalis E, Lian J B. Effects of bone associated growth factors on DNA, collagen and osteocalcin synthesis in cultured fetal rat calvarium[J]. Bone, 1994, 9(2): 243－246.

[5] Ber R, Kubota T, Sodek J, *et al*. Effects of transforming growth factor-beta on normal clone bone cell population[J]. Biochem Cell Biol, 1991, 69(1): 132－140.

[6] Ibbotson K J, Orcutt C M, Anlin A M, *et al*. Effects of transforming growth factors beta and mouse clonal. Osteoblast-like cells line MC3T3E[J]. J Bone Miner Res, 1996, 4(1): 37－45.

[7] Verhar H J, Damen C A, Duursma S A, *et al*. Comparison of the action of 17 beta-estradiol and progestins with insulin-like growth factors-Ⅰ/Ⅱ and transforming growth factor-beta on the growth of normal adult human bone-forming cells[J]. Materitas, 1995, 21(3): 237－234.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

[8] Lind M, Delcuran B, Pedersen K T, *et al*. Chemotaxis of human osteoblasts. Effects of osteotropic growth factors[J]. APMIS, 1998, 103(2):140—146.

[9] Richard D J, Gowen M, MacDonal B R, *et al*. Proliferative responses to estradiol, IL-1 alpha and TGF beta by cells expressing alkaline phosphatase in human osteoblast-like cell cultures[J]. Calcif Tissue Int, 1993, 52(3):227—233.

[10] Wergedal J E, Mohan S, Lundy M, *et al*. Skeletal growth factor and other growth factors known to be present in bone matrix stimulate proliferation and protein synthesis in human bone cells[J]. J Bone Miner Res, 1998, 5(2):179—186.

[11] Strong D D, Wengedal J E, Beachler, *et al*. Transforming growth factor beta increases type I collagen message in cultured normal human bone cells[J]. FASEB J, 1998, (2):A842—844.

[12] Ibbotson K J, D' souza S M, Mundy G R. Transforming growth factors and bone[J]. Ucal Symp Mol Cell Bio, 1997, 46(3):349—363.

[13] Noda M, Yoon K, Prince C W, *et al*. Transcriptional regulation of osteoprontein production in rat osteosarcoma cells by type β transforming growth factor[J]. J Biol Chem, 1988, 263(6):1391—1421.

[14] Linkhart S, Mohan S, Linkhart T A, *et al*. Human skeletal growth factor stimulates collagen synthesis and inhibits proliferation in a clonal osteoblast cell line MCT3T3E1[J]. J Cell Physiol, 1996, 128(2):307—312.

[15] Cheifetz S, Li I W, McCulloch C A, *et al*. Influence of osteoenic protein-1(op-1, BMP-7) and transforming growth factor-beta1 on bone formation *in vitro*[J]. Connect Tissue Res, 1996, 35(1~4):71—78.

[16] Noda M, Camilliere J J, *In vivo* stimulation of bone formation by transforming factor-beta[J]. Endocrinology, 1989, 124(10):2 291—2 294.

[17] Marcellic, Yates K, Mundy G. *In vivo* effects of human recombinant TGF-β on bone turnover in normal mice[J]. J Bone Miner Res, 1996, (5):1 087—1 097.

[18] Rossi P, Karsenty G, Roberts A B, *et al*. A nuclear factor 1 binding site mediates the transcriptional activation of type I collagen promoter by transforming growth factor beta[J]. Cell, 1988, 52(3):405—414.

(编辑 陈聪连)

(上接 93 页)

2 结果

2.1 骨骼肌血流量的变化规律

单纯缺氧大鼠骨骼肌血流量未见明显变化 (0.21±0.05 ml·min^{-1}·g^{-1} *vs* 0.23±0.09 ml·min^{-1}·g^{-1}), 缺氧复合运动大鼠在静息状态下骨骼肌的血流量 (0.41±0.13 ml·min^{-1}·g^{-1})显著高于其它两组, 可达其它两组的 2 倍。

2.2 缺氧及缺氧复合运动对骨骼肌横断面积的影响

单纯缺氧大鼠Ⅰ、Ⅱ型肌纤维横断面积均显著缩小(Ⅰ型:2 252±362 *vs* 2 947±235;Ⅱ型:2 104±160 *vs* 2 391±223 μm^2)。在缺氧环境下运动后, Ⅱ型肌纤维横断面积 (2 331±286) 接近对照组, Ⅰ型肌纤维横断面积 (3 262±178) 甚至超过平原对照组。

2.3 缺氧及缺氧复合运动对骨骼肌毛细血管密度的影响

单纯缺氧 5 周大鼠骨骼肌毛细血管密度较常压对照组显著增加 (661±50 *vs* 599±42 个/mm^2), 但 C/F 比值无明显变化 (1.63±0.18 *vs* 1.62±0.12)。缺氧复合运动大鼠 CD(757±34) 和 C/F(2.17±0.12) 比值均显著高于常压对照组和单纯缺氧组。

2.4 缺氧对 VEGF 及 KDR 表达的影响

免疫组化显示: VEGF 主要存在于骨骼肌毛细血管、肌膜及肌纤维间质; 而 KDR 主要存在于毛细血管内皮细胞上。缺氧复合运动大鼠骨骼肌 VEGF 染色明显强于常压对照组和单纯缺氧组。各组 KDR 差异不明显。

综上所述, 从 C/F 的比值来看, 慢性缺氧时, 骨骼肌毛细血管并没有真正的增生。但由于肌纤维的萎缩、变细, 毛细血管密度增加, 使氧的弥散距离缩短, 从而有利于骨骼肌组织氧的供应。在缺氧环境下进行适当运动时, 骨骼肌肌纤维不发生萎缩, Ⅰ型纤维甚至出现肥大。此时毛细血管密度增加, C/F 比值增加, 说明有新的毛细血管生成, 以适应骨骼肌功能增强的需要。动物在缺氧环境下运动的最初数天, 骨骼肌氧的供/需比值失衡, 可能是引起骨骼肌毛细血管增生的基础。而动物单纯缺氧时, 由于红细胞数增加, 使氧供相对增多; 动物在缺氧环境中的活动量减少及肌纤维萎缩, 使骨骼肌对氧的需求相对减少, 这样氧的供/需失衡现象并不明显, 因此毛细血管不发生增生。此外, 骨骼肌 VEGF 主要存在于毛细血管和肌纤维间质。KDR 主要分布于骨骼肌毛细血管。在慢性缺氧过程中进行体力活动的大鼠, 骨骼肌毛细血管在发生真正增生的同时, VEGF 表达量显著增加; 而单纯缺氧大鼠, 骨骼肌毛细血管并没有真正增生, VEGF 的量也没见明显变化。提示在缺氧条件下运动的大鼠 VEGF 及其受体可能参与骨骼肌毛细血管的新生。

总之, 在高原保持适当的运动量, 不仅可以维持骨骼肌的结构, 使其免于萎缩, 而且可以促使骨骼肌毛细血管增生, 增加骨骼肌的血液供应, 有利于骨骼肌的有氧代谢, 促进机体对高原缺氧环境的习服。

关键词 毛细血管; 骨骼肌; 缺氧; 运动; 血管内皮细胞生长因子

中图法分类号 R845.22 文献标识码 B

(编辑 刘 鹏)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net