

作者简介

赵建民(1965-),男,医学博士,主任医师,教授。现任《内蒙古医学杂志》编委。主要从事颈椎病、慢性腰腿痛等脊柱外科的临床和科研工作,多次获得内蒙古自治区科技进步奖。2004年入选内蒙古自治区新世纪“321人才工程”第二层次人选,参与主持多项内蒙古自然科学基金项目。



文章编号: 1004-2113(2005)03-0251-03

细胞因子与韧带骨化

赵建民

(内蒙古医学院附属医院 骨科, 内蒙古 呼和浩特 010050)

关键词: 细胞因子; 脊柱; 韧带; 骨化

中图分类号: R 686.5

文献标识码: B

韧带骨化是一个复杂而连续的过程,许多细胞因子在不同环节上参与不同时期骨化过程的调节,并受全身及局部因素的调节。作为局部调节的细胞因子,以自分泌或(和)旁分泌的方式调节韧带内各种细胞的趋化、聚集、增殖、分化,调节骨和软骨基质的合成^[1,2]。

1 骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)

BMP是目前发现的唯一能在体内异位诱导未分化的间充质细胞分化,表达骨和软骨细胞表现。BMP诱导成骨细胞内碱性磷酸酶的表达。诱导依赖于甲状旁腺素的cAMP产生和刺激细胞产生骨钙素,同时抑制肌管形成。重组人骨形态发生蛋白-2(rhBMP-2)^[3],还可促进内源性BMP-3和BMP-4 mRNA表达。各类BMP间很可能有一种链式反应,在发挥生理功能时逐个被激活,共同调节细胞的分化和骨化过程。不同部位的间充质细胞分化成骨的能力不同,韧带组织细胞膜上的BMP

受体(BMPR)表明其具有分化成骨的潜能和敏感性,并经受体启动一系列的细胞反应,最终形成异位骨化。Mimatsu^[4]的研究结果显示: BMP在兔子体内可以诱导脊髓背侧新骨形成,引起脊髓压迫性疾病。Hoshi^[5]将rhBMP-2注射于猪的黄韧带内观察其骨化过程的形态学改变。注射后第1wk韧带成纤维细胞开始增生,并逐渐向软骨细胞分化,其周围被富含I型和II型胶原的细胞外基质所包围。第2wk在富含II型胶原的基质内可观察到不同分化时期的软骨细胞,这些软骨细胞含有丰富的BMP受体IA和II。这种病理性软骨逐渐被破软骨细胞吸收,血管和成骨细胞移入,开始软骨内成骨。第3wk BMP所诱导的成骨组织已压迫脊髓。到第6wk韧带组织几乎完全被骨替代。结果表明黄韧带纤维母细胞具有BMP受体,有分化为软骨细胞的潜能。Hayashi^[6]对黄韧带骨化病人手术切除病变组织进行研究,发现在骨化区周围成熟和不成熟的软骨细胞中,在骨化区较远区域的梭形细胞和圆形细胞中均有BMP受体的广泛表达。在黄韧带骨

收稿日期: 2005-05-28; 修回日期: 2005-06-22

基金项目: 内蒙古自然科学基金项目(200408020928)。

化组织中BM P- 2、BM P- 4、BM P- 7均有定位。对照组在黄韧带进入骨的钙化区域有BM P- 7和BM PR 的表达,这种有限的表达仅在较小范围内发现。BM P- 7和BM PR 在对照组和其韧带骨化病人中表达情况的不同说明在其韧带的异位骨化中,BM P- 7及BM P- 2/- 4具有重要作用,并且在以后的发病过程中继续发挥作用。其他研究也有相似的结果^[7-9]。Miyamoto^[11]通过动物实验将提取的BM P- 2植入黄韧带下硬膜外隙,结果黄韧带肥厚并发生骨化,突入椎管,骨化韧带随时间延长而增厚,导致脊髓受压变形,出现不同程度的变性。实验性黄韧带骨化的病理变化与人黄韧带骨化的表现极其相似,因此认为BM P 是人类韧带骨化的诱导因素之一^[8,10,11]。Kon^[12]从后纵韧带骨化病人分离出韧带细胞,观察到BM P- 2可明显提高该细胞的碱性磷酸酶活性,刺激胶原和I型前胶原羧基末端多肽的合成,而对正常人的韧带细胞BM P- 2虽可增加细胞DNA 的合成,但对碱性磷酸酶的活性无影响。在后纵韧带骨化病人样本中,BM - PR- IA、B 和II不仅在钙化区周围的纤维软骨细胞有表达,在非骨化韧带的梭形细胞内也有表达。BM P- 7在邻近钙化区的软骨细胞内有表达,BM - PR 在后纵韧带骨化病人的非活化韧带中的高表达,提示其韧带细胞具有向成骨细胞分化的潜能,表明BM P 在后纵韧带骨化病人的病理性骨化过程中发挥重要作用^[13,14]。在韧带损伤修复过程中,BM P_s的释放可能启动一系列的细胞连锁反应,导致软骨骨化,激发结缔组织化生,最终形成异常增大的韧带骨化灶。

近年来对软骨衍生形态发生蛋白(CDM P)的进一步研究发现其为BM P 家族成员,有三种亚型,其中CDM P- 3即BM P- 12可作用于间充质前体细胞使其形成肌腱样和软骨样组织。

2 转化生长因子(transforming growth factor, TGF)

O no 等^[7]研究发现导致黄韧带骨化的关键因素是生长因子,这些生长因子中BM P 和TGF- β 在黄韧带骨化的发病机理中具有重要作用。TGF - β 通过刺激体内软骨细胞和骨原细胞的增殖分

化来加速软骨和骨的形成。用免疫组织化学方法证明TGF- β 只存在于黄韧带、后纵韧带的骨化处。Tuyama^[15]用免疫染色检测了骨化黄韧带中TGF - β 的分布。TGF- β 在未骨化的纤维区域中未分化的血管周围细胞的胞质呈弱阳性,而在靠近已骨化部分的纤维软骨和透明软骨区域中的软骨细胞的胞质呈强阳性。在骨化的后纵韧带移行区的基质和骨化区域内软骨细胞TGF- β 呈阳性表达,而在非骨化的同一病人的后纵韧带中无TGF- β 的表达,说明TGF- β 在后纵韧带骨化过程中起重要作用^[4,14,15]。

但BM P 与TGF- β 在韧带骨化过程中起作用的靶细胞及其部位有所不同。TGF- β 也能刺激间充质细胞增殖和细胞外基质成分的合成,随着细胞的分化成熟,成骨细胞和软骨细胞又可合成TGF- β 并促进其分裂增殖。TGF- β 能刺激新生血管和软骨形成,同时TGF- β 也可促进已有的成骨细胞及骨原细胞的功能活跃,从而加强成骨能力。但TGF- β 不能单独在体内异位诱导骨形成^[15]。因而BM P 可能作为始动因子起关键作用。BM P 与TGF- β 协同在韧带骨化中起作用。TGF - β 可使分化的成骨细胞聚集,并在其他因子的协同作用下使这些细胞活化,从而加速韧带骨化。

3 胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)

IGF 为一族结构上类似于胰岛素原的多肽,主要包括IGF- I 和IGF- II。IGF- I 是形成维持正常骨骼必需的促进合成作用的多肽,体内它促进骨和软骨生长,体外刺激成骨细胞DNA 和蛋白质合成。Go to^[16]发现所有后纵韧带骨化(OPLL)病人未骨化与骨化韧带之间移行区有圆形软骨样细胞,这些细胞呈IGF- I 抗体染色强阳性。在未分化的软骨组织附近韧带细胞IGF- I 染色呈阳性,明显多于非OPLL 组。通过碱性磷酸酶的活性,DNA 合成和胶原蛋白产生的量,检测培养的脊柱韧带细胞系中IGF- I 的作用,虽然IGF 刺激大多数O - PLL 和非OPLL 细胞系DNA 和I型前胶原蛋白羧基端肽的合成,但OPLL 细胞系增加碱性磷酸酶的活性,且在数量上明显多于非OPLL 细胞系。

结果显示 IGF- I 在 OPLL 病人的后纵韧带呈阳性表达,表明 IGF- I 在 OPLL 细胞中诱导成骨细胞分化,而对非 OPLL 细胞无此作用。所以 IGF- I 可能参与 OPLL 病人后纵韧带的局部骨化过程。

4 S- 100 蛋白

S- 100 蛋白是神经组织蛋白质的一种。

Farusfawa 等研究椎管狭窄病人的黄韧带,认为弹性纤维的变性是由于中性粒细胞释放的弹性蛋白酶和糜蛋白酶引起的,由此继发的肉芽肿病变成为钙盐结晶沉积的部位,嗜中性粒细胞和含有 S- 100 蛋白的软骨细胞的出现加速了钙盐沉积。Sakamoto 等^[17]报道在黄韧带骨化组织间的移行区含有大量的 S- 100 蛋白,因为 S- 100 蛋白是一种钙结合蛋白而且在增生的软骨区比静止软骨区多,所以认为 S- 100 蛋白与细胞外基质钙化有关。而 S- 100 蛋白为一种软骨细胞标志性蛋白,S- 100 蛋白阳性提示骨化尚未完成。

5 其他

Ishida 等研究发现后纵韧带骨化病人非骨化区细胞中甲状旁腺素、前列腺素 E 增加。Wada^[18]应用放射免疫法对 OPLL 病人进行血清雌激素测量,发现其水平增加,且后纵韧带细胞雌激素受体数目增多,说明后纵韧带细胞受到上述激素作用而增殖分化。免疫染色纤维粘连蛋白在骨化韧带血管周围细胞的胞质、纤维软骨和透明软骨区域的软骨细胞的胞质和细胞外基质均呈阳性,且 OPLL 和黄韧带骨化(OLF)病人血浆纤维粘连蛋白明显增高。血浆纤维粘连蛋白又是软骨内成骨的必要因素,推测血浆纤维粘连蛋白对于 OPLL 和 OLF 起促进作用^[19]。近年来有关韧带骨化与氟中毒的报道提示可能是包括黄韧带、后纵韧带骨化在内的脊柱韧带骨化的潜在病因。氟骨症病人与非氟骨症病人黄韧带中氟、钙含量均显著提高。

参考文献

[1] Miyamoto S, Takaoka K, Yonenobu K, et al Ossification of the ligamentum flavum induced by bone morphogenetic protein[J]. *J Bone Joint Surg (Br)*, 1992;

74: 279-283

[2] Urist MR, Delange RJ, Fineman GAM. Bone cell differentiation and growth factors[J]. *Science*, 1983; 220: 680-686

[3] 陈雄生, 贾连顺, 倪斌, 等. 重组人骨形态发生蛋白- 2 诱发黄韧带骨化的实验模型[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2002; 12(1): 31-34

[4] Minatsu K, Kishi S, Hashizume Y. Experimental chronic compression on the spinal cord of the rabbit by ectopic bone formation in the ligamentum flavum with BMP[J]. *Spinal Cord*, 1997; 35(11): 740-746

[5] Hoshi K, Amizuka N, Sakou T, et al Fibroblasts of spinal ligaments pathologically differentiate into chondrocytes induced by recombinant human bone morphogenetic protein- 2 morphological examinations for ossification of spinal ligaments[J]. *Bone*, 1997; 21(2): 155-162

[6] Hayashi K, Ishidou Y, Yonemori K, et al Expression and localization of BMPs and BMP receptors in ossification of the ligamentum flavum [J]. *Bone*, 1997; 21(1): 23-30

[7] Ono K, Yonenobu K, Miyamoto S, et al Pathology of ossification of the posterior longitudinal ligament and ligamentum flavum [J]. *Clin Orthop Related Res*, 1999; 359: 18-26

[8] Okano T, Ishidou Y, Kato M, et al Orthotopic ossification of the spinal ligaments of Zucker fatty rats: a possible animal model for ossification of the human posterior longitudinal ligament [J]. *J Orthop Res*, 1997; 15(6): 820-829

[9] Kawaguchi H, Kurokawa, T, Hoshino Y, et al Immunohistochemical demonstration of bone morphogenetic protein- 2 and transforming growth factor β in the ossification of the posterior longitudinal ligament of the cervical spine[J]. *Spine*, 1992; 17(supp6): S33-36

[10] Sato K, Urist MR. Bone morphogenetic protein induced cartilage development in tissue culture [J]. *Clin Orthop*, 1984; 183: 180-188

[11] 刘莉, 赵明, 王令信, 等. 重组人骨形态发生蛋白- 2 诱导成骨作用的动物实验研究[J]. *中华骨科杂志*, 1995; 15: 519-522

[12] Kon T, Yamazaki M, Tagawa M, et al BMP- 2 stimulates differentiation of cultured spinal ligament cells

- from patients with ossification of the posterior longitudinal ligament [J]. *Calcified Tissue Int*, 1997; **60** (3): 291-296
- [13] Yonemori K, Inamura T, Ishidou Y, et al. BMP receptors and activin receptors are highly expressed in ossified ligament tissues of patients with ossification of the posterior longitudinal ligament [J]. *Am J Pathol*, 1997; **150**(4): 1335-1347
- [14] Inaba K, Matsunaga S, Ishidou Y, et al. Effect of transforming growth factor- β on fibroblasts in ossification of the posterior longitudinal ligament [J]. *In Vivo*, 1996; **10**(4): 445-449
- [15] Centre M, McCarthy TL, Canalis E, et al. Transforming growth factor β and remodeling of bone [J]. *Bone Joint Surg*, 1991; **9**: 1418
- [16] Goto K, Yamazaki M, Tagawa M, et al. Involvement of insulin-like growth factor I in development of ossification of the posterior longitudinal ligament of the spine [J]. *Calcified Tissue Int*, 1998; **62** (2): 1598-1565
- [17] Sakamoto R, Kata TK, Murase M, et al. Comparative study between magnetic resonance imaging and histopathologic findings in ossification or calcification of ligaments [J]. *Spine*, 1991; **16**(7): 253-261
- [18] Wada A. Affinity of estrogen binding in the cultured ligament cells: An in vitro study using cells from spinal ligament ossification patients [J]. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi*, 1995; **69**(7): 640-649
- [19] Miyamoto S, Yonenobu K, Ono K. Elevated plasma fibronectin concentrations in patients with ossification of the posterior longitudinal ligament and ossification of the ligamentum flavum [J]. *Spine*, 1993; **18** (15): 2270-2276

(上接第 244 页)

- [13] Witter G, Hope D, Pyle D, et al. Tissue distribution of opioid receptor gene expression in the rat heart [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996; **218**: 877-881
- [14] Cleveland JC, Jr, Meldrum DR, Rowland RT, et al. Ischemic preconditioning of human myocardium: protein kinase C mediates a permissive role for α 1-adrenoceptor [J]. *Am J Physiol*, 1997; **273** (2 Pt 2): H902-H908
- [15] Miyawaki H, Ashraf M. Isoproterenol mimics calcium preconditioning induced protection against ischemia [J]. *Am J Physiol*, 1997; **272** (2 Pt 2): H927-H936
- [16] Inagawa JZ, Baxter GF, Yellon DM. Genistein, a tyrosine kinase inhibitor, blocks the second window of protection 48h after ischemic preconditioning in the rabbit [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1997; **29**(7): 1885
- [17] Piacentini L, Wainwright CL, Parratt JR. The antiarrhythmic effect of ischemic preconditioning in isolated rat heart involves a pertussis toxin sensitive mechanism [J]. *Cardiovasc Res*, 1993; **27**(4): 674
- [18] Nakano A, Baines CP, Kim SO, et al. Ischemic preconditioning activates MAPKPKA2 in the isolated rabbit heart: evidence for involvement of P38MAPK [J]. *Circ Res*, 2000; **86**: 144-151
- [19] 鲁伟, 刘培庆, 徐江, 等. ERK 及细胞内游离钙在内皮素-1 诱导心肌细胞肥大反应中的作用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2001; **17**(6): 496-500
- [20] McCully JD, Lotz MM, Krukenkamp B, et al. A brief period of retrograde hyperthermic perfusion enhances myocardial protection from global ischemia: association with accumulation of HSP 70 mRNA and protein [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1996; **28** (2): 231-241
- [21] Meldrum DR, Cleveland JC, Meng X, et al. Protein kinase C isoform diversity in preconditioning [J]. *J Surg Res*, 1997; **69** (1): 183-187