

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2013.04.021

骨形态发生蛋白-2 在骨科临床的应用

周凤玲 张向阳

(济宁医学院基础学院,山东 济宁 272067)

关键词 形态发生蛋白-2;骨科;研究进展

中图分类号:R-34 文献标志码:A 文章编号:1000-9760(2013)08-298-04

骨形态发生蛋白(BMP)属于 TGF- β 超家族成员,是一种多功能的生长因子,对胚胎骨形成及出生后成骨有重要的作用,其中 BMP-2 是最主要的骨形成调控因子。最近,BMP-2 在骨科临床中的应用取得了一些新的进展,现综述如下。

1 BMP-2 对成骨活性的调节作用

Morishita 等^[1]研究了 BMP 结合肽(BBP)对重组 BMP-2(recombinant human BMP-2,rhBMP-2)的成骨活性的影响,研究发现单纯低剂量 rh-BMP-2 不能有效诱导骨形成,高剂量时才能形成有效的骨形成及好的骨质量,但将 BBP 和 rhBMP-2 联合使用即使小剂量也可以明显促进骨形成,说明联合应用 BBP 和 rhBMP-2 可明显促进骨折愈合,此有很大的临床应用潜力。Keibl 等^[2]研究发现脂肪源性干细胞可以调控 BMP-2 的骨诱导作用,避免骨痂的过度生长,使骨痂的生成趋于正常体积。

牵拉成骨技术是骨延长治疗的一个很有效的技术,但其治疗时间较长,有不愈合风险,这些阻碍了它的应用。Zhu 等^[3]通过 rhBMP-2 和 NEL-1 结合起来,观察在牵拉成骨中的作用,与对照组相比,实验组骨形成良好,骨密度和骨矿物质含量都高于对照组,并且形成骨的特性更加成熟,这些指标也好于单独使用 rhBMP-2 或 NEL-1,说明结合这两种蛋白可明显提高牵拉成骨的骨愈合,减少牵拉成骨时间,增加愈合率。Rui 等^[4]通过体外实验,研究反复张力负荷对肌腱源性干细胞 BMP-2 表达的影响及 BMP-2 促进肌腱源性干细胞向成骨分化的作用。发现反复的张力负荷可以增加肌腱源性干细胞的 BMP-2 表达,并且 BMP-2 提高了肌腱源性干细胞向成骨分化的能力。这个实验也许可以解释过度使用的肌腱出现异位钙化的原因。

Schwartz 等^[5]研究发现脉冲电磁场可以提高 BMP-2 对于间充质干细胞的骨诱导作用,从而促进骨形成。

2 BMP-2 在骨科临床中的应用

2.1 BMP-2 载体植入

rhBMP-2 在临床上用于治疗骨缺损发挥着重要作用,但使用的最佳浓度和载体却研究不多。Kinsella 等^[6]通过兔颅骨缺损模型做了这方面的研究,发现 0.2mg/ml rhBMP-2 浓度、掺有人工骨(MasterGraft)颗粒的胶原海绵作为载体可有最大程度的皮质骨形成,在骨缺损处形成适度的骨厚度,并且异位骨形成的程度最小。Schützenberger 等^[7]通过体内、体外实验,比较了低剂量 BMP-2 (10 μ g)纤维蛋白载体(BMPF)、高剂量 BMP-2 (72 μ g)胶原蛋白载体(BMPC)的骨诱导效能。体外实验结果 BMPF 组累计 BMP-2 释放量是 BMPC 组的 5 倍,体内实验结果骨愈合范围及成骨量,BMPF 组与 BMPC 组无明显差异。纤维蛋白基质是一种很好的 BMP-2 载体,这种载体使用低剂量 BMP-2 就可以和 7 倍剂量 BMP-2 的胶原蛋白载体的效果相当。

BMP-2 在临床应用中一般以胶原海绵作为载体,这需要大量的 BMP-2,并且其在短时间内大量释放出来。Balmayor 等^[8]研究出一种可以注射的给药系统,叫作淀粉—多聚— ϵ —己内酯微粒,此作为 BMP-2 的载体只需要很少量的 BMP-2。这种载体系统可以在最初的 12h 内迅速释放 BMP-2,并且会持续释放 10d。暴露于这种微粒中的细胞的碱性磷酸酶的活性大大增加,并且发生了矿化作用,骨钙素的活性也增加。这种微粒也使人脂肪干细胞产生了大量的碱性磷酸酶。此说明淀粉—多聚— ϵ —己内酯微粒作为 BMP-2 的控释载体可以

发挥诱导骨形成的作用,并明显减少 BMP-2 的需要量。Chen 等^[9]研究出一种可以注射的水凝胶,由骨膜祖细胞及含有 BMP-2 的多聚双丙烯酸酯组成,这种水凝胶通过纤维软骨的形成明显促进了腱-骨愈合能力。

2.2 BMP-2 在腱—骨愈合中的应用

肩袖损伤在临床比较常见,而肩袖损伤修复却是个难题,特别是那些比较严重的肌腱撕脱,腱-骨愈合能力比较差。为了提高腱-骨愈合能力,Chen 等^[9]研究出一种可以注射的水凝胶,由骨膜祖细胞及含有 BMP-2 的多聚双丙烯酸酯组成,通过动物实验,观察其在肩袖损伤修复中促进腱-骨愈合的能力。实验结果显示在腱-骨结合处有较多纤维软骨形成,在靠近宿主骨处可观察到骨形成,免疫组化显示有软骨聚集蛋白聚糖及Ⅱ型胶原的存在,生物力学实验也显示这种愈合强度优于对照组。提示这种水凝胶通过纤维软骨的形成明显促进了腱-骨愈合能力。Pauly 等^[10]研究发现将肩袖组织中的腱细胞和 BMP-2 一起培养后,可有Ⅰ型胶原的产生,基于 BMP-2 在腱、骨上的生物活性,可以提高肩袖损伤时腱—骨愈合率。

Hashimoto 等^[11]通过动物实验在半腱肌上注射 rhBMP-2 来制造两个骨形成区,从而形成骨-肌腱-骨的移植物,用于膝关节前交叉韧带重建,结果移植物可以很牢固地和胫腓骨融合,其形态和功能正常的前交叉韧带几乎一样。Wang 等^[12]以腺病毒质粒(pCMV)作为载体,研究 BMP-2 基因治疗腱-骨表面愈合,观察其在兔前交叉韧带重建中的作用。结果发现 pCMV-BMP-2 基因疗法促进了腱骨表面血管生成及骨形成,明显促进了腱骨愈合,pCMV-BMP-2 基因治疗为将来临床治疗前交叉韧带重建提供了良好前景。

Rui 等^[13]比较了肌腱源性干细胞联合 BMP-2 与骨髓间质干细胞联合 BMP-2 在腱-骨愈合中的作用,结果发现二者都可促进腱骨愈合,而前者向骨分化的能力优于后者。

2.3 BMP-2 在延迟愈合中的应用

治疗延迟愈合和不愈合一直是临床上的一个挑战,运用一些生长因子来提高骨折端的愈合率是临床上的一个重要方法,Kaipel 等^[14]通过大鼠研究发现,rhBMP-2 能显著提高萎缩性延迟愈合大鼠模型的骨愈合率。Wildemann 等^[15]利用大鼠骨延迟愈合模型,发现局部应用 BMP-2 可以挽救延迟愈合,促进局部血管再生及骨矿化,促进骨折愈

合。

2.4 BMP-2 与干细胞在骨科临床中的联合应用

一些研究表明联合应用 BMP-2 和脂肪干细胞可治愈极限骨缺损,但 Grewal 等^[16]通过大鼠体外实验发现,经过 BMP-2 刺激的脂肪干细胞周围基质的钙化能力降低,并且脂肪干细胞的 BMP-2 受体表达也是减少的;体内实验表明单独的脂肪干细胞并没有使极限骨缺损模型愈合,而 BMP-2 不管有没有脂肪干细胞的参与都治愈了这些骨缺损,这说明脂肪干细胞的骨分化特性并没有受到 BMP-2 的影响,所以,联合应用 BMP-2 的脂肪干细胞来促进骨愈合可能不是一个好的选择。Keibl 等^[2]将纤维蛋白作为载体,联合应用脂肪源性干细胞和 BMP-2,发现可以明显抑制骨痂的过度生长,而单独使用 BMP-2 导致骨痂过度生长,单独使用脂肪源性干细胞则没有促进骨痂生长,这说明脂肪源性干细胞可以调控 BMP-2 的骨诱导作用,使骨痂的生成趋于正常体积。

由于腱—骨连接处的愈合是临床的一大难题,骨髓间质干细胞联合 BMP-2 解决这个难题已得到广泛承认,而肌腱源性干细胞增殖和多向分化潜能却没有得到太多的重视。Rui 等^[13]比较了肌腱源性干细胞联合 BMP-2 与骨髓间质干细胞联合 BMP-2 在腱—骨愈合中的作用进行了比较,结果发现前者在 mRNA 和蛋白水平表达了更多的 BMP 受体(ⅠA,ⅠB 和Ⅱ),向骨分化的能力优于后者。人肌腱源性干细胞(rTSC)在治疗肌腱病变如肌腱钙化等发挥了重要作用,Zhang 等^[17]利用人肌腱干细胞培养基研究了 PGE2 对人肌腱干细胞的增殖和骨分化的影响。发现 PGE2 可减少人肌腱干细胞的增殖而促进了向骨的分化,并且这种作用呈剂量依赖性,并且在培养基中检测到的 BMP-2 也呈剂量依赖性。如果在培养基中加入 BMP-2 的抗体后 PGE2 的这种作用就消失了。这说明 PGE2 减少肌腱干细胞增殖并向成骨细胞分化的作用是通过 BMP-2 介导的。这个机制也许可以解释临床上一些肌腱的病变往往是钙化的原因。

间充质干细胞(MSCs)在 BMP-2 的诱导下会表达成骨细胞的表型,脉冲电磁场(PEMF)在体内也可以促进成骨细胞的活性。Schwartz 等^[11]研究发现脉冲电磁场可以提高 BMP-2 对于间充质干细胞的骨诱导作用,并且这种作用在磷酸钙作为底物的培养基中更为明显,提示脉冲电磁场在体内骨环境中可以提高间充质干细胞对 BMP-2 的敏感性,

从而促进骨形成。

2.5 BMP-2 提高骨替代品骨整合作用的临床应用

自体骨移植是填充大块骨缺损的金标准,但由于供区骨量有限及并发症如疼痛、出血及感染等,使自体骨移植受到一定限制,迫使寻找骨的替代品。在临床实践中,最常用的是羟基磷灰石和磷酸三钙,并使用 BMP-2 来提高骨替代品的骨整合作用。Maus 等^[18] 希望可以利用添加了 BMP-2 的透明质酸来作为一种可以注射的骨替代品来治疗骨缺损。结果发现这种骨替代品并没有促进骨形成,所以联合应用 BMP-2 及透明质酸不能作为治疗骨缺损的骨替代品。

Dohzono 等^[19] 通过兔模型,利用大肠杆菌介导的 rhBMP-2 可吸收多空 β -磷酸三钙微粒,来观察其在腰椎后外侧融合中的作用,并与自体骨移植相对比。结果发现这种微粒以 rhBMP-2 剂量依赖性实现了腰椎融合,这种融合与自体骨移植相比在成骨体积、机械性能及组织结构上无明显差别,所以这种微粒载体可以作为一种新的自体骨替代物来产生新生骨及提高骨的再生修复,将来在临床脊柱病变的治疗上有很好的应用前景。Zhao 等^[20] 利用 β -磷酸三钙(β -TCP)和 BMP-2 基因修饰的骨髓间质细胞(bMSCs)形成的组织工程骨复合物来修复骨缺损,结果显示与对照组相比,实验组可检测到更多的碱性磷酸酶和矿化结节,骨桥蛋白和骨钙素的 mRNA 的表达明显增加,成功修复了骨缺损,并且新生骨的比例大大高于对照组。骨质疏松患者移植骨的愈合能力受到限制,Li 等^[21] 研究出一种骨替代物,载有 rhBMP-2 明胶微粒的磷酸钙水泥,发现这种骨替代物可以释放更多的 rhBMP-2,并且可快速促进骨愈合,骨钙化速度明显加快,骨的强度也大大增加,此为需要植骨的骨质疏松骨折提供一个很好的骨替代物。

2.6 并发症

BMP-2 的骨诱导作用毋庸置疑,但它在临床应用上的并发症研究比较少,比如异位骨化。Boraiiah 等^[22] 研究发现在胫骨平台骨折软骨下骨缺损使用 BMP-2 的植骨会出现明显的异位骨化,发生率 58.8%,高于对照组 4.3%,40% 的患者需再手术清除异位骨,所以在关节周围使用 BMP 有较大的形成异位骨化的风险,并且增加了再手术率。

美国食品和药物管理局(FDA)指明 BMP 在小儿患者中禁忌使用。但在治疗一些疑难病例却

得到肯定,比如在治疗小儿下肢和脊柱的病例时相对安全。Ritting 等^[23] 报道了 BMP-2 应用在儿童上肢骨折中出现了过度炎症反应和骨吸收,导致伤口不愈合、骨折不愈合及内固定断裂,很多应用 BMP-2 潜在的危险尚不明确,如作为 BMP-2 载体的胶原的抗体产生、对生长的局部和全身影响等,所以小儿病人中常规应用 BMP-2 是不明智的。

Sailhan 等^[24] 通过兔胫骨截骨模型,以 I 型胶原海绵作为载体,来观察局部应用 rhBMP-2 在骨延长术中的作用及并发症,结果发现实验组有更明显的骨再生,骨矿物质密度也远远高于对照组,并且出现了过早的骨固化,这种作用呈剂量依赖性,高剂量的 rhBMP-2 导致骨过早愈合,使骨不能充分延长。

3 展望

BMP-2 凭借其优良的骨诱导性再骨折愈合和骨缺损的治疗方面发挥了重要作用,已广泛应用于临床。但是,BMP-2 的临床应用也存在不少并发症。如何减少 BMP-2 临床应用的并发症应是今后的主要研究方向。

参考文献:

- [1] Morishita Y, Naito M, Miyazaki M, et al. Enhanced effects of BMP-binding peptide combined with recombinant human BMP-2 on the healing of a rodent segmental femoral defect [J]. J Orthop Res, 2010, 28(2): 258-264.
- [2] Keibl C, Fögl A, Zanon G, et al. Human adipose derived stem cells reduce callus volume upon BMP-2 administration in bone regeneration [J]. Injury, 2011, 42(8): 814-820.
- [3] Zhu S, Song D, Jiang X, et al. Combined effects of recombinant human BMP-2 and Nell-1 on bone regeneration in rapid distraction osteogenesis of rabbit tibia [J]. Injury, 2011, 42(12): 1467-1473.
- [4] Rui YF, Lui PP, Ni M, et al. Mechanical loading increased BMP-2 expression which promoted osteogenic differentiation of tendon-derived stem cells [J]. J Orthop Res, 2011, 29(3): 390-396.
- [5] Schwartz Z, Simon BJ, Duran MA, et al. Pulsed electromagnetic fields enhance BMP-2 dependent osteoblastic differentiation of human mesenchymal stem cells [J]. J Orthop Res, 2008, 26(9): 1250-1255.
- [6] Kinsella CR, Bykowski MR, Lin AY, et al. BMP-2-mediated regeneration of large-scale cranial defects in the canine: an examination of different carriers [J]. Plast Reconstr Surg, 2011, 127(5): 1865-1873.
- [7] Schützenberger S, Schultz A, Hausner T, et al. The optimal carrier for BMP-2 a comparison of collagen versus fibrin ma-

- trix[J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2012, 132 (9): 1363-1370.
- [8] Balmayor ER, Feichtinger GA, Azevedo HS, et al. Starch-poly-epsilon-caprolactone microparticles reduce the needed amount of BMP-2[J]. Clin Orthop Relat Res, 2009, 467 (12): 3138-3148.
- [9] Chen CH, Chang CH, Wang KC, et al. Enhancement of rotator cuff tendon-bone healing with injectable periosteum progenitor cells-BMP-2 hydrogel in vivo[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2011, 19 (9): 1597-1607.
- [10] Pauly S, Klatte F, Strobel C, et al. BMP-2 and BMP-7 affect human rotator cuff tendon cells in vitro[J]. J Shoulder Elbow Surg, 2012, 21 (4): 464-473.
- [11] Hashimoto Y, Naka Y, Fukunaga K, et al. ACL reconstruction using bone-tendon-bone graft engineered from the semitendinosus tendon by injection of recombinant BMP-2 in a rabbit model[J]. J Orthop Res, 2011, 29 (12): 1923-1930.
- [12] Wang CJ, Weng LH, Hsu SL, et al. pCMV-BMP-2-transfected cell-mediated gene therapy in anterior cruciate ligament reconstruction in rabbits[J]. Arthroscopy, 2010, 26 (7): 968-976.
- [13] Rui YF, Lui PP, Lee YW, et al. Higher BMP receptor expression and BMP-2-induced osteogenic differentiation in tendon-derived stem cells compared with bone-marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. Int Orthop, 2012, 36 (5): 1099-1107.
- [14] Kaipel M, Schutzenberger S, Schultz A, et al. BMP-2 but not VEGF or PDGF in fibrin matrix supports bone healing in a delayed-union rat model[J]. J Orthop Res, 2012, 30 (10): 1563-1569.
- [15] Wildemann B, Lange K, Strobel C, et al. Local BMP-2 application can rescue the delayed osteotomy healing in a rat model[J]. Injury, 2011, 42 (8): 746-752.
- [16] Grewal NS, Gabbay JS, Ashley PK, et al. BMP-2 does not influence the osteogenic fate of human adipose-derived stem cells[J]. Plas Reconstr Surg, 2009, 123 (2s): 158S-165S.
- [17] Zhang J, Wang JH. BMP-2 mediates PGE(2)-induced reduction of proliferation and osteogenic differentiation of human tendon stem cells[J]. J Orthop Res, 2012, 30 (1): 47-52.
- [18] Maus U, Andereya S, Gravius S, et al. Lack of effect on bone healing of injectable BMP-2 augmented hyaluronic acid[J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2008, 128 (12): 1461-1466.
- [19] Dohzono S, Imai Y, Nakamura H, et al. Successful spinal fusion by E.coli-derived BMP-2-adsorbed porous b-TCP granules[J]. Clin Orthop Relat Res, 2009, 467 (12): 3206-3212.
- [20] Zhao J, Hu J, Wang S, et al. Combination of b-TCP and BMP-2 gene-modified bMSCs to heal critical size mandibular defects in rats[J]. Oral Dis, 2010, 16 (1): 46-54.
- [21] Li M, Liu X, Liu X, et al. Calcium phosphate cement with BMP-2-loaded gelatin microspheres enhances bone healing in osteoporosis[J]. Clin Orthop Relat Res, 2010, 468 (7): 1978-1985.
- [22] Boraiah S, Paul O, Hawkes D, et al. Complications of recombinant human BMP-2 for treating complex tibial plateau fractures: a preliminary report[J]. Clin Orthop Relat Res, 2009, 467 (12): 3257-3262.
- [23] Ritting AW, Weber EW, Lee MC. Exaggerated inflammatory response and bony resorption from BMP-2 Use in a pediatric forearm nonunion[J]. J Hand Surg Am, 2012, 37 (2): 316-321.
- [24] Sailhan F, Gleyzolle B, Parot R, et al. Rh-BMP-2 in distraction osteogenesis: dose effect and premature consolidation[J]. Injury, 2010, 41 (7): 754-760.

(收稿日期 2013-06-25)

(上接第 263 页)还需进一步研究予以证实。

超声肿块的大小、淋巴结转移、血流以及钼靶患者腺体类型、肿块密度均与 ER、PR、CerbB-2 表达无显著相关性。国内外对以上相关内容的报道存在争议^[6], 需要进一步加大样本量完善已有结论。

本文将超声与钼靶相结合, 探讨乳腺癌影像学表现与 ER、PR、CerbB-2 的关系。通过乳腺癌影像学表现可预测肿瘤的分子生物学表达情况、评估预后, 并为临床治疗方案的选择提供影像学参考依据。

参考文献:

- [1] Alder DD, Carson PL, Rubin JM, et al. Doppler ultrasound color flow imaging in the study of breast cancer: preliminary findings[J]. Ultrasound Med Biol, 1990, 16 (6): 553-559.
- [2] Kasami M, Uematsu T, Honda M, et al. Comparison of estrogen receptor, progesterone receptor and Her-2 status in breast cancer pre-and post-neoadjuvant chemotherapy[J]. Breast, 2008, 17 (5): 523-527.
- [3] 田丽元, 陈东风, 曹长军, 等. 乳腺癌超声表现与分子生物学指标的相关性研究[J]. 中国医学影像学杂志, 2011, 6 (8): 468-475.
- [4] Stavros AT, Thickman D, Rapp CL, et al. Solid breast nodules: use of sonography to distinguish between benign and malignant lesions[J]. Radiology, 1995, 196 (1): 123-134.
- [5] Kim SH, Seo BK, Lee J, et al. Correlation of ultrasound findings with histology, tumor grade, and biological markers in breast cancer[J]. Acta Oncologica, 2008, 47 (8): 1531-1538.
- [6] Ma J, Zuo M, Sun GP, et al. Correlativity study on mamographic features and cerbB-2 of breast cancer[J]. Chinese-German J Clin Oncol, 2006, 5 (5): 350-353.

(收稿日期 2013-03-22)