

生物学与临床应用

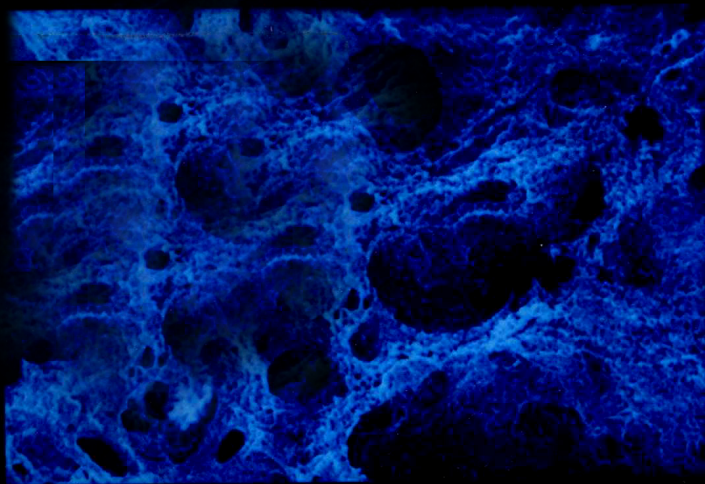
骨再生与修复

Bone Regeneration and Repair

Biology and Clinical Applications

原著 Jay R. Lieberman
Gary E. Friedlaender

主译 邱贵兴 赵 宇



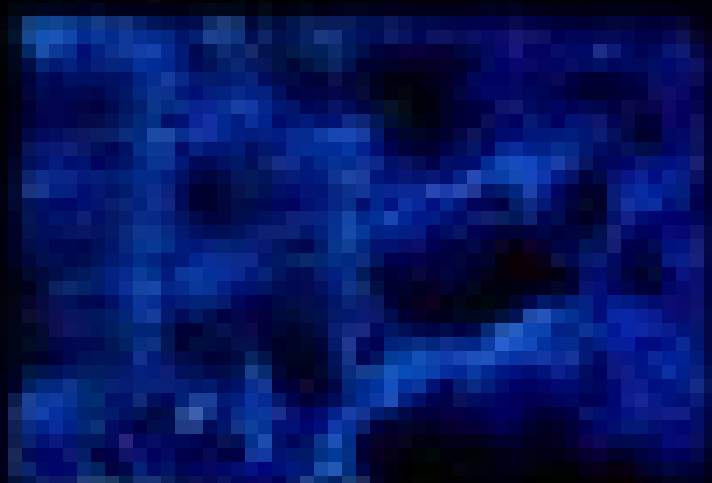
人民卫生出版社

生物学与临床应用

骨再生与修复

Bone Regeneration and Repair
Biology and Clinical Applications

THE JAMES H. MCGRAW
HILL COMPANY
JANUARY 1999



人民卫生出版社

骨再生与修复

生物学与临床应用

Bone Regeneration and Repair
Biology and Clinical Applications

原著 Jay R. Lieberman
Gary E. Friedlaender

主译 邱贵兴 赵 宇

人民卫生出版社

Translation from the English language edition:
Bone Regeneration and Repair: Biology and Clinical Applications by Jay R. Lieberman, et al.
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2008
Humana Press Inc. is a part of Springer Science + Business Media
All Rights Reserved.

骨再生与修复: 生物学与临床应用
邱贵兴等译
中文版版权归人民卫生出版社所有。

敬告

本书的作者、译者及出版者已尽力使书中的知识符合出版当时国内普遍接受的标准。但医学在不断地发展, 随着科学研究的不断探索, 各种诊断分析程序和临床治疗方案以及药物使用方法都在不断更新。强烈建议读者在使用本书涉及的诊疗仪器或药物时, 认真研读使用说明, 尤其对于新的产品更应如此。出版者拒绝因参照本书任何内容而直接或间接导致事故与损失负责。

需要特别声明的是, 本书中提及的一些产品名称(包括注册的专利产品)仅仅是叙述的需要, 并不代表作者推荐或倾向于使用这些产品; 而对于那些未提及的产品, 也仅仅是因为限于篇幅不能一一列举。

本着忠实于原著的精神, 译者在翻译时尽量不对原著内容做删节。然而由于著者所在国与我国的国情不同, 因此一些问题的处理原则与方法, 尤其是涉及宗教信仰、民族政策、伦理道德或法律法规时, 仅供读者了解, 不能作为法律依据。读者在遇到实际问题时应根据国内相关法律法规和医疗标准进行适当处理。

图书在版编目(CIP)数据

骨再生与修复: 生物学与临床应用/(美)列伯曼
(Lieberman, J. R.)著; 邱贵兴等主译. —北京: 人民
卫生出版社, 2010. 11
ISBN 978-7-117-13251-0

I. ①骨… II. ①列…②邱… III. ①骨再生-研究
②骨疾病-修复术-研究 IV. ①R68

中国版本图书馆CIP数据核字(2010)第171996号

门户网: www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网: www.ipmph.com	护士、医师、药师、中 医、卫生资格考试培训

版权所有, 侵权必究!

图字: 01-2006-1477

骨再生与修复 生物学与临床应用

主 译: 邱贵兴 赵 宇
出版发行: 人民卫生出版社(中继线 010-59780011)
地 址: 北京市朝阳区潘家园南里19号
邮 编: 100021
E-mail: pmph@pmph.com
购书热线: 010-67605754 010-65264830
010-59787586 010-59787592
印 刷: 北京智力达印刷有限公司
经 销: 新华书店
开 本: 787×1092 1/16 印张: 23.25 插页: 4
字 数: 571千字
版 次: 2010年11月第1版 2010年11月第1版第1次印刷
标准书号: ISBN 978-7-117-13251-0/R·13252
定 价: 62.00元
打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com
(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)

- SAM AKHAVAN, MD • *Department of Orthopaedic Surgery, Case Western Reserve University, Cleveland, OH*
- JAMES ARONSON, MD • *Chief of Pediatric Orthopaedics, Arkansas Children's Hospital, Professor, Departments of Orthopaedics and Pediatrics, University of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock, AR*
- KODI AZARI, MD • *University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA*
- AXEL BALTZER, MD • *Praxis und Klinik für Orthopaedie, Dusseldorf, Germany*
- DANIEL J. BERRY, MD • *Orthopaedic Department, Mayo Clinic, Rochester, MN*
- OLIVER BETZ, PhD • *Center for Molecular Orthopaedics, Harvard Medical School, Boston, MA*
- K. CRAIG BOATRIGHT, MD • *The Emory Spine Center, Department of Orthopaedic Surgery, Emory University School of Medicine, Atlanta, GA*
- SCOTT D. BODEN, MD • *The Emory Spine Center, Department of Orthopaedic Surgery, Emory University School of Medicine, Atlanta, GA*
- MATHIAS BOSTROM, MD • *Hospital for Special Surgery, New York, NY*
- SCOTT P. BRUDER, MD, PhD • *Department of Orthopaedics, Case Western Reserve University, Cleveland, OH; and DePuy Biologics, Raynham, MA*
- BRUCE A. DOLL, DDS, PhD • *Department of Periodontics, University of Pittsburgh School of Dental Medicine, Pittsburgh, PA*
- B. FRANK EAMES • *Department of Orthopaedic Surgery, University of California, San Francisco, CA*
- THOMAS A. EINHORN, MD • *Professor and Chairman, Department of Orthopaedic Surgery, Boston Medical Center, Boston University School of Medicine, Boston, MA*
- CHRISTOPHER H. EVANS, PhD • *Center for Molecular Orthopaedics, Harvard Medical School, Boston, MA*
- GARY E. FRIEDLAENDER, MD • *Department of Orthopaedics and Rehabilitation, Yale University School of Medicine, New Haven, CT*
- MARK C. GEBHARDT, MD • *Chief of Orthopaedics, Beth Israel Deaconess Hospital and Orthopaedic Oncology Service, Children's Hospital, Boston, MA*
- RICHARD S. GILBERT, MD • *Mount Sinai School of Medicine, New York, NY*
- VICTOR M. GOLDBERG, MD • *Department of Orthopaedic Surgery, Case Western Reserve University, Cleveland, OH*
- MOUSSA HAMADOUCHE, MD, PhD • *Department of Orthopaedic and Reconstructive Surgery (Service A), Centre Hospitalo-Universitaire Cochin-Port Royal, Paris, France*
- JILL A. HELMS, DDS, PhD • *Department of Orthopaedic Surgery, University of California, San Francisco, CA*

- SARAH HOLLAND, MD • *University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA*
- JEFFREY O. HOLLINGER, DDS, PhD • *Bone Tissue Engineering Center, Departments of Biomedical Engineering and Biological Sciences, Carnegie Mellon University, Pittsburgh, PA*
- LAWRENCE HO • *University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA*
- FRANCIS J. HORNICEK, MD, PhD • *Orthopedic Oncology Service, Massachusetts General Hospital and Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA*
- ELIZABETH JONESCHILD, MD • *Seattle Hand Surgery Group, Seattle, WA*
- JAY R. LIEBERMAN, MD • *Department of Orthopaedic Surgery, David Geffen School of Medicine, University of California, Los Angeles, CA*
- SAMUEL E. LYNCH, DMD, DMSc • *BioMimetic Pharmaceuticals Inc., Franklin, TN*
- HENRY J. MANKIN, MD • *Orthopedic Oncology Service, Massachusetts General Hospital and Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA*
- THEODORE MICLAU, MD • *Department of Orthopaedic Surgery, University of California, San Francisco, CA*
- CALIN S. MOUCHA, MD • *Division of Adult Joint Replacement & Reconstruction, Department of Orthopedics, New Jersey Medical School, University of Medicine & Dentistry of New Jersey (UMDMJ), Newark, NJ*
- DANIEL A. OAKES, MD • *Orthopaedic Department, Mayo Clinic, Rochester, MN*
- PAUL D. ROBBINS, PhD • *Department of Molecular Genetics and Biochemistry, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA*
- JAMES T. RYABY, PhD • *Senior Vice President, Research and Development, OrthoLogic Corp., Tempe, AZ*
- RICHARD A. SCHNEIDER, PhD • *Department of Orthopaedic Surgery, University of California, San Francisco, CA*
- TONY SCADUTO, MD • *Shriners Hospitals for Children, Los Angeles, CA*
- CHARLES SFEIR, DDS, PhD • *University of Pittsburgh School of Dental Medicine, and Bone Tissue Engineering Center, Carnegie Mellon University, Pittsburgh, PA*
- DOUG SUTHERLAND, MD • *Hospital for Special Surgery, New York, NY*
- WILLIAM W. TOMFORD, MD • *Orthopedic Oncology Service, Massachusetts General Hospital and Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA*
- STEPHEN B. TRIPPEL, MD • *Department of Orthopaedic Surgery, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, IN*
- JAMES R. URBANIAK, MD • *Division of Orthopaedic Surgery, Duke University Medical Center, Durham, NC*
- MARK VRAHAS, MD • *Center for Molecular Orthopaedics, Harvard Medical School, Boston, MA*
- SCOTT W. WOLFE, MD • *Professor of Orthopedic Surgery, Weill Medical College of Cornell University, and Attending Orthopedic Surgeon, Hospital for Special Surgery, New York, NY*

目 录

第一章	骨动力学——形态发生、生长、塑形和重建·····	1
第二章	骨折修复·····	19
第三章	胎儿骨形成和成人骨折修复的一般分子调控机制·····	43
第四章	移植骨的生物学特点·····	54
第五章	以细胞为基础的骨再生策略——从发育生物学到临床治疗·····	63
第六章	带血管腓骨移植的生物学研究·····	88
第七章	生长因子在骨生成中的调节作用·····	107
第八章	骨移植与骨移植替代材料·····	126
第九章	改善骨愈合的基因转移技术·····	149
第十章	用于骨折和骨不连治疗的骨形成蛋白和其他生长因子·····	161
第十一章	用于骨修复与重建的伊利扎诺夫(Ilizarov)技术·····	185
第十二章	脊柱融合的生物学·····	213
第十三章	异体骨移植·····	227
第十四章	全关节成形术过程中植骨的生物学及临床应用·····	247
第十五章	电、电磁和超声场等生物物理刺激对骨折愈合和脊柱融合的疗效·····	272
第十六章	带血管蒂腓骨移植的临床应用·····	290
第十七章	颌面部的修复·····	314
第十八章	骨再生技术在口腔颌面部的应用·····	335

第一章 骨动力学

——形态发生、生长、塑形和重建

引言

骨骼系统的形态发生、生长、塑形是一个动态的过程,且骨骼一旦形成,又不断地进行重建。要想尝试对这样的过程进行研究以获得一个公认的定义和描述,往往会引起激烈的争论。对于这一类争论的观点本章节进行了回顾,这有利于大家进一步讨论。这是一项有意义的工作。

我们可以从骨形态发生、生长、塑形和重建的文献中获得相当多的信息。然而,在准备这篇综述的过程当中,我发现要想搞清骨骼生长、塑形和重建的差别有时也不是那么容易的。一些杰出学者已做了大量基础工作,发表了重要的指南,使我能够有所侧重,整理其中的关键定义和基本原则,从而完成这篇综述。

本章节将围绕骨的形态发生、生长、塑形和重建进行阐述。我在撰写本文的过程中受益匪浅,人体 206 块骨头所呈现出来的形态与功能之复杂性及一体性,不禁令人敬意油然而生^[1]。我将它和大家一起分享。

工作定义和基本原则

对复杂的生理过程有一致认可的定义,能够为对话提供一个坚实的平台。本文中定义的基础是经参考多个文献提炼而成,并由作者进行了合并和简化。读者朋友若有兴趣,可查阅本文的参考文献,以得到更多的启示和细节。

形态发生引起生长。形态发生是在胚胎发生期的一系列完美的事件,使细胞聚集而发生诱导反应;结局是形成了一个三维结构,比如骨骼^[2]。生长包括了在骺板闭合前由软骨内起源的管状骨长度和周长增加的过程^[3]。膜内骨,一般来说不是管状的,而是弯曲的、盘状的,没有像长骨那样的生长板,在遗传因素作用下长大,继而停止生长。对于颅骨,生长板的类似物是囟门。囟门如前囟、后囟、乳突囟以及前外侧囟都为进一步生长(即扩大,在尺寸上增大)留下了缝隙。值得人深思的是,骨骼的生长需要以遗传调控为前提条件,从而使细胞的有丝分裂、分化、量上的扩增以及增大(细胞数量和体积均增大)。

非肿瘤细胞有一个内置的“管理者”来管理细胞分裂。比如说,人的胎儿成纤维细胞可以经历 80 次的细胞分裂,而成人的成纤维细胞在分裂约 40 次之后就停止了,有趣的是,胚鼠成纤维细胞可以分裂 30 次。控制细胞分裂的机制尚不清楚;然而细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子,细胞周期蛋白依赖性激酶的消耗以及细胞接触依赖性细胞之间的相互作用被

提示有一定作用^[4,5]。从胚胎学角度来说,具有指令细胞群体作用的形态发生密码,能够促使诱导反应的发生,从而构建出三维结构^[2]。一个形态发生密码提供了控制细胞数量、大小和生长的指南。因此,生长可以被认为是由分子信号指控的动态事件。

骨骼的生长过程即是骨骼的塑形过程,细胞活跃,一派壮观景象,包含了神秘的合作关系。细胞用三维蓝图精心制作出 206 块^[1]生长的骨头,从临床上即能分辨出每一块,无论是 6 个月大的婴儿,3 岁大初学走路的孩子,14 岁的少年,30 岁的外科住院医,或是 70 岁的荣誉教授,他们的股骨都能被一一分辨出来。到目前为止,预编程序的结构上的模子被译解为遗传信息,激素指令(如生长激素)以及机械信号:“塑形必须同时改变尺寸和结构”^[6,7]。

生长和塑形的最后产物就是由 206 块骨头构成的成人骨骼系统,而常年的维护则是由重建来完成的。重建维持成人骨骼结构,修补创伤,同时能满足钙磷代谢动态平衡的要求,“重建…[是]用新的组织取代旧的,而并不需要改变骨的大体结构和大小。”^[6,7]

总而言之,正如弗罗斯特在最近的几篇报告中阐述的:“生长决定大小。塑形塑造形状。而后重建维持功能的正常发挥。”^[6,7]

形态发生和生长

塑形要发生,一定会需要一个结构做模子。需要提出一些基本的问题:①为什么(以及怎么样)细胞会在一个特定的部位聚集?②为什么(以及如何使得)细胞的聚集产生一个被认为是“骨”的结构?很明显,分子信号是答案。它们驱动细胞,细胞间相互作用,然后一个所谓“骨”的结构就形成了。然而,“分子信号”这个答案产生出另一个疑问:为什么会有特定的分子信号表达?分子信号的完美产物是形态发生,而关于分子信号的启示与遗传密码纠缠在一起,令人困惑。形态发生引起生长,而生长引起塑形。

形态发生是发生在胚胎形成期的一系列有重大意义的事件,细胞聚合在一起,有了发生诱导反应的机会;结局就是形成了骨骼系统。形态发生和骨与一个强大系列的形态成形成素有关联:骨形态发生蛋白^[15,16]。还有其他一些关键的有诱导作用的形态成形成素将会被提到^[17]。

在胚胎发育过程中,骨的形态发生涉及一些特定位置的控制中心,控制中心的细胞通过信号因子调控其他细胞。信号因子是由一些保守的多基因家族编码的蛋白质;多基因的例子如骨形态发生蛋白(bmp),表皮生长因子(egf),成纤维细胞生长因子(fgf),“刺猬”和 *Wnts*^[2,17-26]。

脊椎动物中的“刺猬”家族包括了来自黑腹果蝇“刺猬”基因的三个同源基因:沙漠刺猬、印第安刺猬和声音刺猬(*Shh*)。*Shh* 可能是对骨骼系统最重要的基因,它介导了横向轴的形成(鸡)以及起始肢体前后轴的形成。*Shh* 在肢芽形成中诱导了 *fgf4* 的表达,继而导致 *fgf4* 与 *Wnt7* 作用。“*Wnt*”是来自于黑腹果蝇的体节极性基因“无翅”基因(*wingless*)和脊椎动物中相应的同源基因“整合”基因(*integrated*)这两个名字的结合。

信号中心最终成为肢芽,在此聚集了间质细胞和上皮细胞,这些也许是在 *fgf8* *fgf10* 和 *shh* 的控制下进行的^[27](参见参考文献 2)。有 4 个轴向的水平面,间质-外胚层的聚合体在此相互作用,形成所谓“顶端外胚层嵴”(apical ectodermal ridge, AER)^[28]。四个肢芽在此形成,在 AER 的后部,也就是极化活性区(zone of polarizing activity, ZPA),*shh* 担当着间质细胞

有丝分裂原的角色。一小束间叶组织向远心方向发展而渐偏离中线,接着进一步建立更多的细胞表型,从而赋予软骨原基轮廓及形态,这里也是软骨细胞前体和Ⅱ、Ⅸ、Ⅺ型胶原产生的地方(见参考文献13的综述)。

基因簇,同源异型框基因(*Hox* 基因)确保了肢芽的定位以及肢体的形成^[18,29]。在 *Hox* 基因表达障碍的老鼠中,手指或脚趾缺失的情况时有发生。这与 *Hoxa*、*Hoxd* 相关^[30],在人类 *Hox-13* 表达障碍可引起并指(趾)现象^[33]。

shh 还调节趾骨及掌骨的前后方向,同样也编排 *bmps*、*fgfs* 和 *Sox9*(调控膜内软骨形成的软骨基因)等基因的表达^[17]。*shh* 促进外胚层中 *fgf4*、中胚层中 *bmp2* 的表达,并调节前后定位以及四肢生长^[33]。

由于在骨生成过程中有很多的这样的调控因素,所以细胞也有“困惑”的时候。通过某种尚不明确的机制,混乱的生长并不是主要规律,而是要通过细胞之间的互相调节以及协调一致从而推动骨的生长。生长和运动过程的调节过程(如骨成长的塑形)造就了我们精细的手脚,可爱的中耳砧骨、镫骨以及粗壮的股骨。除了存在促发生和分化的信号外,还有引导细胞死亡的信号:细胞凋亡信号。

就像一首充斥着生机与死亡的交响乐,胚胎发生就是一个被一整套分子工具不断打磨而成的不可思议的联盟行为,要决定哪里将出现细胞聚集,细胞相互作用,并且从聚集处衍生出相应形状、大小、位置的骨结构,细胞的死亡亦是如此。在特定位置群的分子集束指引着身体位置、形态、细胞、组织和器官的发育。这个观点在 Storm 及其同事^[21,34]对由于生长分化因子 5,6,7 的突变引起短肢病小鼠的报道中有所强调,并且已被 Kingsley 发现了短耳鼠与 *bmp5* 基因编码子的中断相关的证据所证实^[19]。这种短耳鼠零位突变导致了耳朵、胸骨、椎体大小和形态的改变,但并不影响四肢。与之相反,短肢症的突变造成四肢骨和手指长度的变化,但并不影响耳朵、肋骨和椎体。对于这两种基因形态的一种解释就是存在信号中心的镶嵌形式,而其中某种镶嵌结构缺失了。其最终结果取决于是哪一种部分缺失了。

在胚胎发生过程中,控制步骤必须被启动以终止或纠正不良事件;细胞外终止机制广泛来说包括细胞接触和细胞外抑制信号。*bmps* 信号是强大的,活跃的事件诱导者,必须被调控。目前已发现存在拮抗 *bmps* 信号家族的存在,包括了 *noggin*、*fetuin*、*chordin*、*cerberus* 和 *DAN*(见参考文献 35)。*DAN* 可以对抗 *bmp* 引起的软骨细胞凋亡^[36]。(软骨细胞凋亡是关节形成所必需的)。当小鼠中的 *noggin* 表达被阻断,多发的骨骼缺陷就会出现,包括椎体短缩,肋骨及肢体畸形,关节形态缺失。至于软骨发育和骨生长,在小鼠关节软骨形成中,只要来源于 *bmp-7* 的软骨形成信号缺乏^[34],那么生长分化因子-5 就会成为必需。

细胞内终止机制同样存在,并且对于骨细胞来说,可能还包括细胞内信号分子,如 *smads*(哺乳动物的果蝇 *MAD* 类似基因)^[38,39]。*Smad* 是果蝇 *MAD* 类似基因-*dpp*-秀丽隐杆线虫 *Sma* 基因的缩写。骨形态发生蛋白与丝氨酸-苏氨酸跨膜蛋白受体结合,引起受体磷酸化,激活成 *smad* 复合体,转成信号传导至细胞核,接着发生转录(图 1.1)^[35](将在成骨细胞章节有更详细地阐述)。其他 *smad* 复合体会阻断这一过程(参见文献 35)。

对于这一点,已经有大量的信息提供了线索,但还没有深入到细胞工匠们对生长和调节的功能如何工作的程度。能够形成软骨形成细胞、成骨细胞、破骨细胞系统的多能干细胞将在以后再讨论到。

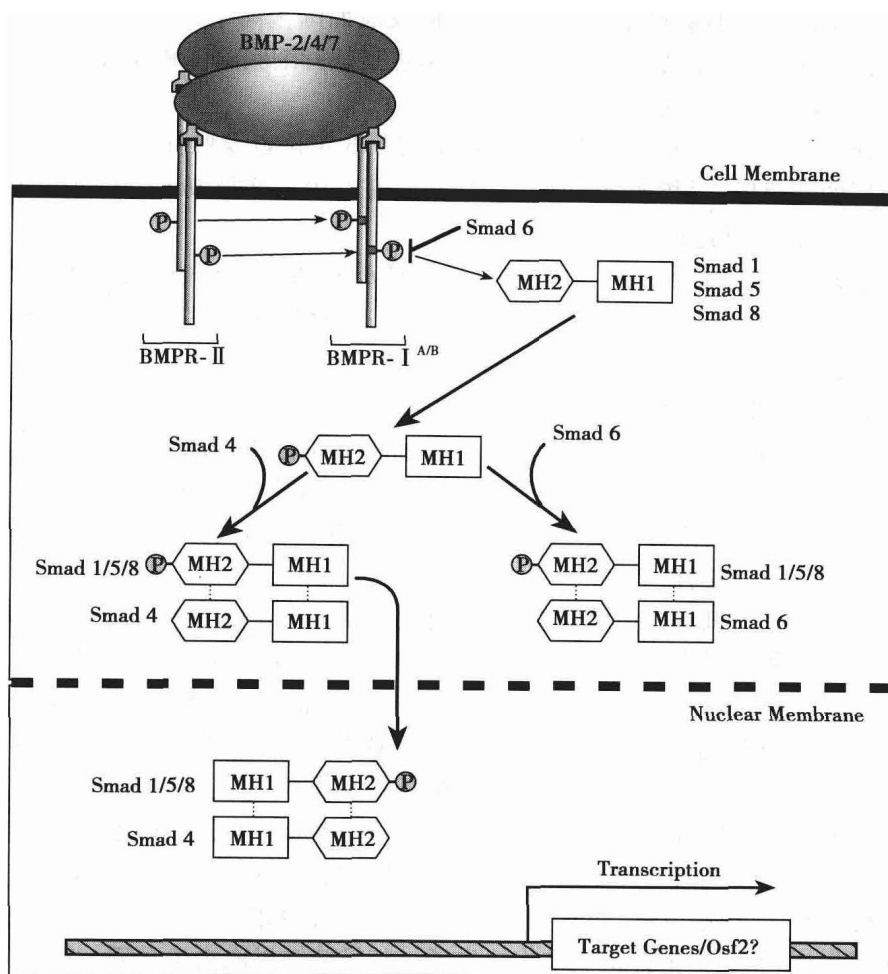


图 1.1 BMP 受体结合与细胞内信号传导。BMPs 结合 I 型与 II 型丝氨酸/苏氨酸激酶受体 (BMPR-I^{A/B} 和 BMPR-II) 形成一个异质二聚体。在结合之后, II 型受体磷酸化 (P) I 型受体富含甘氨酸-丝氨酸区域。I 型受体又磷酸化 Smads 1, 5 以及可能的 8 的 MH2 区 (Smad 同源区)。(Smad 6 结合 I 型受体可能会阻断磷酸化)。在磷酸化后, Smad 1, 5, 8 复合体要么结合 Smad 4 转运到细胞核内, 要么结合 Smad 6 从而信号中断。Smad 1, 5, 8-Smad 4 复合体穿过细胞核膜时直接或者间接的激活成骨细胞特异性受体-2 (Osf2), 从而可以激活基因转录。(已获得 Schmitt, J. M., Hwang, K., Winn, S. R., 和 Hollinger, J. O 授权 [1999]) Bone morphogenetic proteins: An update on basic biology and clinic relevance. J. orthoped. Res, 17, 269-278.

软骨细胞

含有预定会通过软骨下成骨发育的多能间质细胞的肢芽会表达 II b 型胶原, 软骨细胞特异性转录 *alpha1*(II) 基因, IX 和 XI 型胶原以及基质谷氨酸蛋白 (gla) (见参考文献 25)。与软骨细胞分化的转录控制相关的是 *Sox9*^[17,40]。*Sox9* 和 II 型胶原是软骨形成细胞系共同表达的软骨细胞特异性基因。软骨细胞分化、成熟和增生似乎为成纤维生长因子及其受体、甲状旁腺激素相关肽 (PTHrP) 和金属蛋白明胶酶所控制^[44]。

PTHrP 控制着软骨细胞向肥大化软骨细胞分化的速度。比如说, 移植骨在接受高水平

PTHrP 刺激后,会出现肥大分化的延迟;缺乏 PTHrP 小鼠的肥大软骨细胞就会提前分化(参见文献 25)。PTHrP 的上游调控者是印度刺猬因子(Ihh),这是一种存在于软骨下骨软骨细胞芽基上的基因产物。

直至骨骺闭合,长骨将不断增长并且增粗。骨骺伸长的能量是受生长激素(GH)刺激的,它可以影响软骨细胞分泌胰岛素样生长因子-I(IGH-I)。通过一种“自分泌”的形式,IGH-I“自体刺激”软骨细胞更多地分泌 IGH-I,同时,通过“旁分泌”方式,刺激其他的软骨细胞产生类似的变化。成骨细胞分泌 IGF-I 相应甲状旁腺激素和生长激素;这些因子具有促骨合成代谢作用,从而促进骨周径的增加(参见文献 47)。

有证据表明成纤维生长因子受体-3(fgfr3)通过限制软骨细胞增殖来负性地控制生长;fgfr3 缺乏则会导致长骨的过度生长(小鼠实验)^[48]。金属蛋白明胶酶 B,是一种存在于软骨细胞外基质的催化酶,似乎控制着软骨细胞成熟、凋亡和血管化的最终组成形式^[44]。

增生软骨细胞的血管化预示着软骨细胞的钙化,并随之出现程序性的细胞死亡(如凋亡)。那些多能间充质细胞最终会变成破成骨细胞、成骨细胞、髓系衍生细胞和破骨细胞前体。

成骨细胞和骨细胞

在复杂的胚胎发生、背腹定向、肢芽发育的过程中,由众多信号线索(bmps,bmp 样分子,fgf,同源框基因产物,Ihh,shh,TGF- β 和Wnt)形成的交响乐编织成一个美丽的织锦,为多能干细胞以及命运既定的各类分子提供了良好的定位^[2,15,16,19,20,28,32,49-52]。成骨系细胞进展的线索强烈提示始动因素是某些骨形成蛋白(bmps)、TGF- β 家族成员和 bmp 样基因表达产物(生长分化因子-5,gdf-5)^[53,59](除了 bmp-1,某些 bmps 引起成骨细胞分化;TGF- β 刺激增殖并能抑制分化^[60])。分化的节奏也同样需要通过抗 bmp 因子(如noggan,chordin,fetuin,DAN,Cerberus)的调节来共同支撑(见文献 35,61 和 62),这些抗 bmp 因子能够快捷地结合同源受体、丝氨酸-苏氨酸跨膜受体-配体结合物^[20,63-65]以及通过 smads 进行跨膜信号传导。Smads 信号快车接受了与 TGF- β 和 BMPs(如配体)相互作用的受体信号,并将之传导至细胞核,在那里开始另一套信号传导。

在细胞核内,激活的 Smad 复合体能够引领 DNA 编码的核质活动(见参考文献 35)(图 1.2)。其过程包括核转录因子 Runx-2(a.k.a. 核心结合因子 A:cbfa-1),它可以刺激引导成骨细胞表型分化的特异性基因表达^[66-68]。Runx-2 是一种独特的成骨细胞分化的核转录因子(见参考文献 35,69,70)。有假说认为 Runx-2 的激活能够导致一系列的事件发生,由 BMP 初始的受体间相互作用,然后是细胞间 Smad 信号传导。

Smad 激活的复合体经过细胞质,穿过核膜并与 DNA 结合,在那里引起 Runx-2 的反应。Runx-2 基因的激活启动了 Runx-2 蛋白的表达,该蛋白与骨钙素转录启动子结合,指令成骨细胞分化^[23]。骨钙素和 Runx-2 是成骨细胞的标志。

在纯合子缺失 Runx-2 的小鼠中没有成骨细胞形成,并且因肋间肌肉无力于产后死亡^[66]。对于 Runx-2 纯合子突变的小鼠总是存在一种锁骨-颅骨发育不全的表型,这是一种常染色体显性遗传疾病,特点是锁骨发育不全,囟门不闭,多齿和身材矮小^[71]。

勤奋工作的成骨细胞通常有三种命运:程序性细胞死亡(细胞凋亡),衬细胞和骨细胞。凋亡是最常发生的情况,其次依次是骨细胞和衬细胞。骨细胞和衬细胞是保持骨活力和响应生物力学信号的必要因素。这两种表型将在骨重建章节有更详细的阐述。

破骨细胞会锚定在先前已被成骨细胞占据的骨表面上,它们都是通过细胞外基质整合受体: $\alpha v \beta 3$ (玻连蛋白样受体)、 $\alpha 2 \beta 1$ (胶原受体)和 $\alpha v \beta 1$ 完成这个行为的^[80]。另外,骨桥蛋白也帮助破骨细胞固定到骨面上,就像成骨细胞一样^[12]。

骨骼生长是一个多维的,指定其大小的遗传编码过程。这样一个有着特定社会等级关系的细胞集团,通过信号传导,雕塑着骨的生长,这一过程就叫做骨塑形。

骨塑形

细胞改变着骨的形状和大小。这是生长还是在塑形呢?肢体骨在长度和周径上生长。骺板生长中心允许骨延长,但是骨膜面是离心移动的,这是由成骨细胞沉积所驱动的。同时,骨膜下生长过程是向心的,一系列破骨活动缓慢地扩大了骨髓腔。肢体骨的成长保持着一个大体的形态,所以小孩的“小”股骨和成人的“大”股骨看上去非常的相似。与之相反,中轴和颅面部的骨骼并没有骺板生长中心。所以,椎体的轴向生长是通过骨膜表面精确滴定式沉积和骨膜内沉积再吸收组成的。形容词“漂流”^[6,71,81,82]描绘了成骨形成和破骨再吸收波浪式的运动,并形成骨的四维性:体积与时间。这种生长过程中的运动正是骨塑形过程来完成的。

U型的下颌骨、中间和上部的颜面及颅骨可以看做是多个骨板榫接在一起,形成头颅复合体的囟门,形成与再吸收的漂流能够允许大脑生长的增加。头颅与上颜面部组成的骨复合体常常被误称为“扁平骨”。学习了颅骨和中颜面骨,一般牙科医科和医学预科生都会同意在那块区域并没有什么是“扁平”的,反而,愿意决定使用曲线作为其定义。所以颅面部复合体的骨应该被正确且精确地描述为“弯曲”骨。早在30多年前,Enlow就注意到弯曲骨造形、再塑形、吸收和形成的生长漂移这一错综复杂的模式^[81,82]。

骨骼生长(包括形态和大小)是被激素掌控着的,在到达青春期后,激素的阀门关闭,例如生长激素受到抑制——生长停止了。

成人骨骼的形状和大小的维持由再塑形过程完成,损伤的骨质不断地被充满活力的细胞所取代^[6,7,13]。但是成人骨骼真的就停止塑形了吗?极其复杂的生理事件和众多定义常常使人们对于塑形和再塑活动的理性认知陷入困境。它们的区别是和时间有关吗?还是和它们进程中的不同有关?Frost提出^[6,7]并由Kimmel强调:^[8]在成人骨骼中,大体和微观的塑形仍然继续着,大体塑形增加骨抗弯曲的能力(通过扩展骨膜下和骨膜内皮质),微观塑形可以调整骨小梁结构以最好地适应功能挑战。

一项最近的文献显示:“骨重建在胚胎早期即已开始”^[14],作者还提到:“骨凭借塑形活动开始形成,也就是发育预定部位出现的矿化组织沉积。”^[14]另一篇报道提出:“在塑形之后,正常人体骨完整性的保持取决于骨再塑。”接着还写道:塑性是以骨形状或骨结构改变为特点的过程。例如发生在生长、骨折修复或者生物力学压力发生改变之时。就这点而言,塑形过程发生在有(未闭合的)生长板的生物中(如未成熟动物)以及面临生物力学压力(如剧烈运动)或骨折的未成熟和成熟生物体内^[83]。

简单地说:这一过程就是改变骨形态使之能够适应功能挑战,满足稳定的生理需要。虽然一些细胞反应未闭合或闭合骺板的骨中表现会有所不同,但整个活动过程可以想象为一个简单的整体。这个理念能够提供一个更广泛的基础和更简单的平台以让越来越多的临床医生和科学家进行对话,并能够成为一个包容性的交流介质而不是相互排斥的障碍。

骨重建

正如 Frost 综述的那样^[7], 哈佛骨重建第一次被报道是在 1853 年, 但是借用 Frost 修改过的最经典的定义应该是: “重建维持功能(骨的能力)”^[7], 而且“重建为替代、维持、稳定的需要而服务”^[6]。遭受损伤的成骨会被一定量的新骨所替换但其形态大小不会明显改变^[83]。这些定义不包括骨折修复的重建。稳定状态的重建与骨折修复的重建两者在启动方面存有不同, 有着不同但相似的刺激因素, 但在其动态过程中共同存在着细胞们的参与。Frost 曾对骨折重建发表过一个概念: 区域性加速现象(RAP)^[7]。本章将重点讨论稳定重建, RAP 的概念将会用到。

复杂生理事件的一个简单解释很容易诱发口诛笔伐, 对于定义者的打击也会很严重。关于重建的那些简单解释掩盖了细胞和信号因子的高度神秘复杂的行为。但简单的解释能使新手们去除神秘感, 尽管会激怒专家和引起定义者的担忧。所以本章剩余部分的挑战主要是要建立一条讲原理、易理解的阳关大道。

骨重建过程的理解和解释工作已经被众多献身科学研究的学者与临床医生骨干们所充满激情地进行着, 其中佼佼者正是 Frost 和 Parfitt。他们领头, 其他人追随。礼敬他们的工作能够获得灵感和建设性的指导。

重建能够雕饰现有骨形态, 使其更坚实和纤密, 重塑骨小梁结构, 修补缺损, 为适应稳定的需要改变各部分关系。所以, 必须要一个强有力或者说是充满活力的信号被激活以发动这一过程。该信号要么是体液因素(如 PTH), 要么是生物力学因素(如张力), 或者同时存在。而信号的感应器是细胞, 该信号将激活成骨细胞。因为某种尚未知的原因, 成骨细胞离开骨表面, 让出空位给破骨细胞^[14]。破骨细胞到达没有了成骨细胞的骨表面, 通过整联蛋白样的结

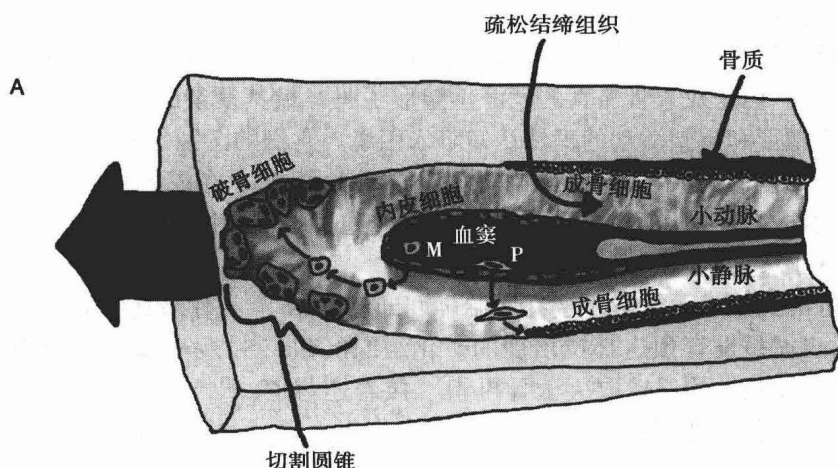


图 1.3 (A) 图例显示了取自人类髌骨的基本多细胞单位(BMU), 其运动方式按着大箭头方向所示。破骨细胞(OCL)生成圆锥的运动速度大约是 $25\mu\text{m}/\text{d}$ 。“圆锥”大约长 $500\mu\text{m}$, 宽 $200\mu\text{m}$ 。成纤维细胞(Ob)和血窦之间的地区衬着疏松结缔组织基质。从血窦处吸引过来的 M(单核细胞)可以分化成破骨细胞。邻近血窦内皮细胞的周细胞(P)会分化成成骨细胞(Ob)。(已经由 Parfitt. A 修改和授权[1998] Osteoclast precursors as leukocytes; importance of the area code. Bone 23(6), 491-494)

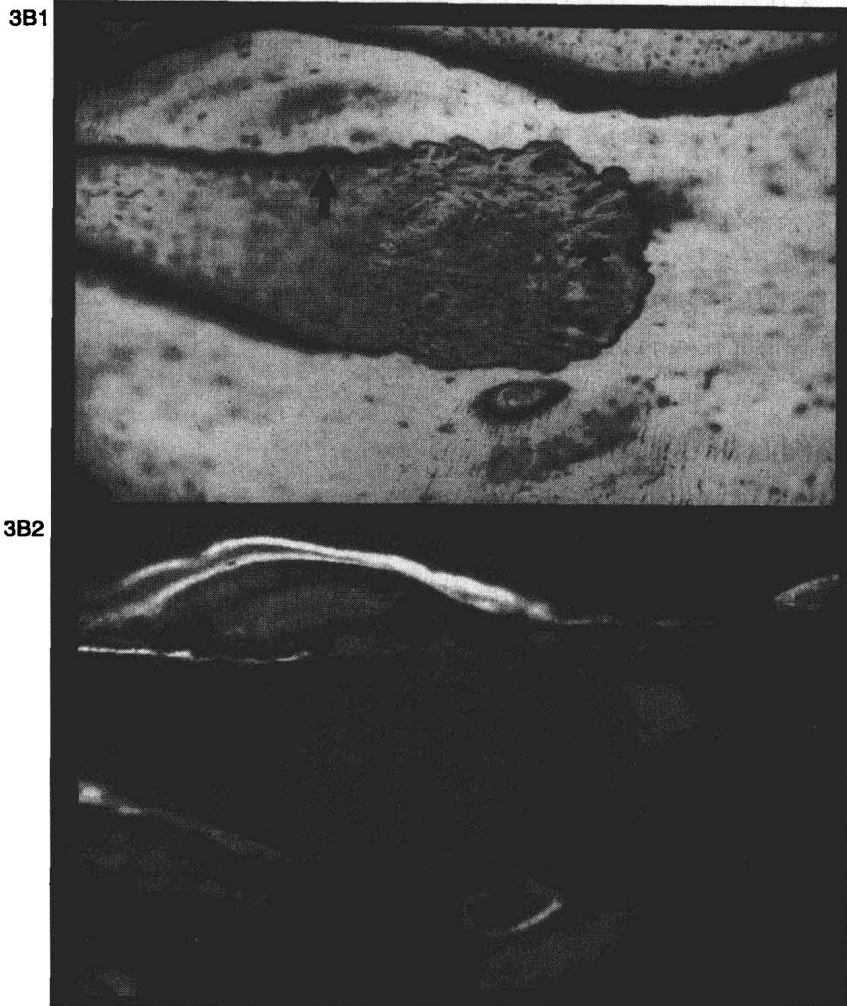


图 1.3(续) (B1)人髂骨嵴 BMU 切割圆锥式活检。破骨细胞(*号)在吸收前线的前方,成骨细胞(箭头)紧随其后并沉积骨质。(Villanueva 矿化骨染色, 100 $\times$)(由 Antonio villanueva, Ph. D 友情提供显微照片)。(B2)如前图所示同一个 BMU, 荧光标志显示出骨质矿化。Villanueva 矿化骨染色, 100 $\times$)(由 Antonio villanueva, Ph. D 友情提供显微照片)

合方式锚定在其上,吸收一定量的骨质(每天最多 $5\mu\text{m}^{[84]}$),同时,因为尚未确定的原因,然后其活动终止了,服从于程序性细胞死亡,并最终分离开。成骨细胞又会被没有破骨细胞的区域所召集。而那些召集机制还远远未被了解。成骨细胞贴附到富含骨桥蛋白的黏合线上,薄层状形式样地分泌一种可以骨化的骨样基质。骨样基质以每天 $1\sim 2\mu\text{m}$ 的速度产生,最终可达将近 $20\mu\text{m}$ 的厚度(经过 10 天左右的成熟期),其骨化的速度也是每天 $1\sim 2\mu\text{m}^{[85]}$ 。

这个关于重建的删减版本并未考虑骨质部位(如骨膜、骨膜下、哈弗管、皮质、骨小梁等),而只是划分为激活-吸收-形成(ARF)^[86](成骨细胞被激活、移位,被破骨细胞取代并吸收骨质,破骨细胞移位,被成骨细胞取代并沉积骨质。虽然细胞内很多有些启动与关闭的功能已经被阐明了,但仍有更多的细节需要被发现和揭示)。与重建相关的一群细胞(或者细胞团块^[3])就是基本多细胞单位(BMU),而 BMU 短暂的持续时间(或称作其生命跨度)称作 sigma(图 1.3A,B)^[84]。

重建是一个持续的活动,动态活动是受体液或生物动力学因素所驱动的,其结果是每年约有 25% 左右的骨小梁和约 3% 的皮质骨被移走并被取代^[9]。当随着年龄老化,成骨形成和破骨吸收的平衡变得越来越不同步:骨丢失出现并且最终成为临床疾病——骨质疏松^[87]。

小梁骨(松质骨)和皮质骨再重建;其分别在于 BMU 会将松质骨挖出一条沟,皮质骨挖出一个坑,而剩余部分为切割区,而最终都会被新的所修复。无视地形的差异是 BMU 的技巧,这个过程开始于聚集了静止细胞、线样细胞或者濒死分化成骨细胞的表面。再重建 BMU 的 ARF 顺序是不变的;无论是松质骨或皮质骨,激活的 BMU(如 sigma)大约 2~8 个月^[9],尽管这种情况在疾病状态下也可能会被推迟到 2~10 年,比如说骨质疏松和骨软化症^[7]。

基本多细胞单位:信号和细胞

成骨细胞和破骨细胞谱系细胞的聚集以及它们最终形态表型连续地用新骨填充着受损骨质(疲劳损害)^[88]。再次强调,细胞集团按时间顺序行进(如 sigma)即为基本多细胞单位(BMU)。BMU 活动的加速需要一个刺激因素,要么是体液方面的,要么是生物力学方面的。华丽的骨生理是如此有序以至于会出现随意行为;所以,一个强有力的检测机制以决定所需并作出响应是必要的。用什么来检测出需求?如果是体液机制,那什么能检测出生物力学的信号并反映出所需?如果是生物力学机制,也必然面临同样的问题。

信号的起源

骨重建的信号起源与骨骼系统的三大功能相关——内稳定,造血,机械作用(如肢体肌肉附着)——但不是其第四大作用:保护。内稳定与骨骼系统总是和磷酸盐和钙连接在一起。血浆钙浓度平均在 9.4mg/dl(范围自 9.0 到 10.0mg/dl),但磷酸盐主要存在两种阴离子状态:二价阴离子和单价阴离子,其浓度分别为 1.05mmol/L 和 0.26mmol/L^[89]。精确的钙水平的滴定需要通过肝脏和维生素 D₃、肾脏和 1,25-二羟基维生素 D₃、PTH 以及肠上皮细胞(在此钙与钙结合蛋白相结合并被吸收)共同参与的反馈环来完成的。磷酸盐是一种阴离子,受肾脏调节,当 PTH 水平升高时肾脏便会排出增多。

为了响应内稳定的需要,与 BMU 细胞相关的系统的体液调节因素包括:1,25-二羟基维生素 D₃、雄激素、降钙素、雌激素、糖皮质激素、生长激素、甲状旁腺素和甲状腺素(见于多个作者的文献^[14,90-92])。PTH 和 1,25-二羟基维生素 D₃ 促进钙吸收;它们与降钙素抑制钙吸收的作用相反。其相互作用机制尚不明确。关键性的系统信号是雌激素^[93]:该激素分泌减少会导致吸收快于形成,骨量下降,其临床疾病诊断即为骨质疏松。骨质疏松并不是性别特异性的。雌激素是由睾酮合成而来的^[14]。随着年龄的增加,血浆 PTH 水平升高而雌激素水平下降,这将促进细胞介素 IL-1、-6 和可能的 RANK-L 水平的升高^[93]。雌激素的损耗会引起骨细胞的凋亡,可能引起骨量的丢失^[94,95]。

局部体液因素包括促进骨形成的 BMPs、FGF、IGF、TGF- β 、PTHrP,引起骨吸收的有 GM-CSF, ILs^[1,4,6,11,13,18] 以及 M-CSF^[14,90-92]。这样的二分法并不是绝对的,这只是普遍规律。有一些争论和矛盾的数据,比如说, TGF- β 就有促进骨吸收和骨形成的双重作用。

受局部现象比如炎症的影响而分泌的造血信号包括细胞介素和淋巴因子,如 IL-1、6、11