

现代

骨科诊疗学

xiandai guke zhenliao xue

主编 刘立峰 王平山 吴 冰
王 文 刘 鑫 尹海磊

内蒙古科学技术出版社

编委会

主 编:刘立峰 王平山 吴 冰 王 文
刘 鑫 尹海磊
副主编:郑吉波 胡 健 扈克治 赵晓虹
刘本立 王 健 余 健 尹海霞

编者及所在单位:

刘立峰 (济南军区总医院)
王平山 (济南军区总医院)
吴 冰 (解放军第401医院)
王 文 (济南军区总医院)
刘 鑫 (济南军区总医院)
尹海磊 (解放军第401医院)
郑吉波 (济南军区总医院)
胡 健 (解放军第401医院)
扈克治 (解放军第181医院)
赵晓虹 (济南军区总医院)
刘本立 (济南军区总医院)
王 健 (武警上海总队医院)
余 健 (山东曹县人民医院)
尹海霞 (济南军区联勤部第一干休所)
董俊峰 (济南军区总医院)
陶春生 (解放军第401医院)
孙培锋 (解放军第401医院)
李洪鹏 (解放军第401医院)
冯 鹏 (解放军第401医院)
辛泽团 (青岛城阳人民医院)
刘世峰 (即墨市人民医院)
耿兴聪 (即墨市人民医院)
潘春旭 (即墨市人民医院)
袁显开 (即墨市人民医院)

前 言

由于现代骨科学迅速发展,治疗方法、技术、设备等不断改进与完善,同时,骨科领域中一些创伤和疾病的发生规律随着社会的进步也有了显著的变化,例如,结核病有了回潮之势,骨关节结核较前有所增加;高速交通的大力发展,也使骨关节创伤、多发损伤增多,伤情更复杂,骨折类型和粉碎性骨折更为多见;创伤、长骨干骨折的治疗,从AO发展到BO,髓内针固定从梅花针发展到扩髓的髓内锁钉,再到不扩髓的髓内针,直至现在的髓内扩张自锁钉,钢板的类型、接触面积、置入方法等均有了较大的改进,手术治疗的进展使疗效大为提高;脊柱损伤和脊柱疾患后路固定和前路固定的设计和材料的发展类型多样,更加完善,使脊柱内固定术后的稳定性得到加强;脊髓损伤的早期药物治疗、充分减压、有效固定已成为常规;断指再植达到新的水平;人工关节在髋、膝关节置换基本定型,提高了长期效果;关节镜的应用也日益广泛,麻醉方法也日臻成熟。

为了使骨科医师在临床工作中更加深入了解病情,以便根据可能的技术和设备条件选择对患者最适当的方法进行治疗,并进行骨科知识的更新,我们组织了20余位从事骨科临床工作的医务人员,根据自己多年的临床实践,参考国内外大量文献,充分吸收现代医学新知识、新理论、新技术、新疗法精心编写了本书。

本书共二十三章,内容翔实、条理清晰、文字严谨,注重理论与实践的相互结合,具有很强的指导性,可作为各级医务人员、大专院校教师、科研人员的专业书籍和参考读物。

本书编写过程中,虽几经编者相互审读、修正,但由于作者水平有限,加上时间仓促,不当之处在所难免,希望各位同道海涵并批评指正。

刘立峰
2009年4月

目 录

第一章 骨科基础进展	1
第一节 骨形成蛋白	1
第二节 bFGF 在骨组织再生中的作用	4
第三节 促进骨合成代谢的药物	6
第四节 他汀类药物对骨形成的作用	10
第五节 引导骨组织再生膜技术	13
第六节 磷酸钙骨水泥	16
第二章 骨矫形	20
第一节 幼儿脊柱侧弯非融合性手术	20
第二节 先天性脊柱侧凸的外科治疗	23
第三节 青少年特发性脊柱侧凸的病因	27
第四节 青少年特发性脊柱侧凸的支具治疗	30
第五节 特发性脊柱侧弯手术治疗对肺功能的影响	34
第三章 肱骨骨折	37
第一节 肱骨近端骨折	37
第二节 移位性肱骨近端骨折	39
第三节 肱骨近端骨折并肩关节脱位	42
第四节 肱骨干骨折	45
第五节 肱骨髁骨折	46
第四章 尺桡骨骨折	56
第五章 膝骨关节炎	66
第一节 病因及发病机制	66
第二节 诊断与治疗	68
第三节 关节镜清理术治疗	72
第四节 中医药治疗	76
第六章 股骨骨折	80
第七章 胫腓骨骨折	95
第一节 胫骨平台骨折	95
第二节 有限内固定结合外固定架治疗胫骨骨折	99

第三节	胫骨近端骨折的微创治疗	102
第四节	胫腓骨骨折	106
第五节	胫腓骨开放性骨折外固定架和带锁钉内固定治疗	109
第八章	脊柱脊髓创伤	113
第一节	脊柱脊髓损伤概况	113
第二节	椎骨骨折	116
第三节	脊柱手术硬脊膜损伤与脑脊液漏	124
第四节	新型神经细胞支架材料	128
第五节	脊柱动力性固定系统	131
第六节	脊柱融合术后相邻节段的蜕变	135
第七节	非融合性脊柱手术治疗进展	139
第八节	脊髓损伤	142
第九节	细胞移植修复脊髓损伤	146
第九章	脊髓栓系综合征	151
第十章	骨髓炎	155
第十一章	骨结核病	162
第一节	概述	162
第二节	脊柱结核的手术治疗	165
第三节	内固定手术治疗脊柱结核	169
第十二章	骨原发性恶性肿瘤	172
第十三章	骨转移性肿瘤	181
第一节	概述	181
第二节	骨转移性肿瘤放射性核素治疗	185
第三节	支气管肺癌骨转移	188
第四节	乳腺癌骨转移的分子机制	191
第十四章	骨缺损与骨修复	195
第一节	炎性细胞因子与骨缺损修复	195
第二节	长骨大段骨缺损	198
第三节	组织工程技术修复骨缺损	201
第四节	间充质干细胞修复骨缺损	205
第十五章	手外伤	209
第一节	手部皮肤、皮下组织及筋膜	209
第二节	手部的血管	210
第三节	手部的神经	214
第四节	手部骨与关节	216
第五节	手指的局部解剖	218
第六节	手部骨折	220
第七节	手部关节脱位	225

第十六章 显微外科基本操作	231
第一节 显微外科技术操作要求	231
第二节 显微外科基本技术训练	232
第三节 镜下硅胶管及动物试验	234
第四节 微血管吻合技术	237
第五节 显微神经吻合技术	242
第六节 显微肌腱缝合技术	245
第十七章 断指再植术及手术技巧	247
第一节 断指再植适应证	247
第二节 断指再植顺序与方法	250
第三节 靠近掌指关节处的断指再植术的骨处理	256
第四节 前臂残端断指异位再植重建部分手部功能	257
第五节 合并皮肤血管缺损的断指再植	260
第六节 断指再植的医学伦理学要求	261
第十八章 特殊类型的断指再植	263
第一节 末节断指再植	263
第二节 拇指旋转撕脱性断离再植	264
第三节 双侧多指断离的再植	265
第四节 手指多节段离断的再植	266
第五节 小儿断指再植	269
第六节 手指严重的脱套伤、挤压伤的断指再植	273
第七节 毁坏性断指再植	274
第八节 老年断指再植	275
第十九章 皮瓣的临床应用	278
第一节 肌皮穿支皮瓣	278
第二节 皮瓣血供监测技术	281
第三节 远端蒂腓肠神经—小隐静脉筋膜皮瓣	283
第四节 真皮下血管网皮瓣	286
第五节 桡动脉鼻咽窝上行穿支逆行皮瓣	290
第二十章 骨骼 X 线诊断	294
第一节 骨骼肌肉系统 X 线表现	294
第二节 骨与关节外伤 X 线诊断	298
第三节 化脓性骨髓炎和化脓性关节炎 X 线诊断	304
第四节 骨及关节结核 X 线诊断	305
第五节 颈椎病 X 线诊断	307
第六节 骨肿瘤及肿瘤样病变 X 线诊断	308
第七节 其他关节疾病 X 线诊断	312
第二十一章 麻醉	314

第一节	小儿全身麻醉	314
第二节	全凭静脉麻醉	317
第三节	常用静脉全身麻醉药物	320
第二十二章	创伤并发症	324
第一节	创伤后并发症及死亡结局的预测	324
第二节	创伤后应激障碍的流行病学	329
第三节	创伤后应激障碍药物治疗	331
第四节	创伤后脊髓空洞症的诊治	336
第二十三章	创伤急救	338
第一节	创伤的院前急救	338
第二节	转运方式对严重创伤患者病情影响	341
第三节	创伤性休克复苏治疗	343
第四节	严重创伤患者院前液体复苏	345
第五节	创伤输血	349
第六节	急性严重创伤现状及救护	352
第七节	多发伤患者的救护	356

第一章 骨科基础进展

第一节 骨形成蛋白

骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)是一类典型的酸性糖蛋白,是乙型转化生长因子(TGF- β)超家族的成员之一,它们能够诱导促进软骨和骨的形成,并可与多种不同性质的载体复合,组成各种类型的有生物诱骨活性的骨修复材料,在矫形外科领域有着广泛的应用前景及重要的应用意义。目前,国内外有多家研究机构对此进行研究,以期对其特质有更深入的了解。

一、BMPs 对造骨细胞,造骨基因和造骨功能的调节

寻找 BMPs 的靶细胞和靶基因是理解 BMPs 和它的拮抗剂在骨骼代谢平衡功能的关键。骨髓间充质干细胞可以分化为造骨细胞、软骨细胞、肌原细胞和脂肪细胞等。分化方向由细胞微环境中的激素和局部信号所决定,包括 BMPs 和它们的结合蛋白。其中 Runx-2 或 Cbfa-1 在细胞向造骨细胞途径分化过程中起关键作用。

某些基因可以下调造骨细胞分化。例如,Id 基因是 BMP 依赖的螺旋—线—螺旋转录元件的负调控子,对于细胞的生长和分化具有影响。对于细胞分化,Id 基因表现为负调控,对于细胞增殖 Id 基因表现为正调控。它们由 BMP 诱导可作为减少 BMP 在造骨细胞中活性的机制。未分化的间叶细胞可以向各个方向分化,C/EBPs 是转录元件家族的可以在细胞分化过程中起关键作用的成员。从文献中,6 种 C/EBPs 已经被定性出来。在骨髓细胞中 BMP-2 并不上调 C/EBP 表达,这可能造成它们诱导向造骨细胞分化,而不是 adipocytic 途径。可是,在特定的培养条件的作用下或在一些其他元件作用下,BMPs 具有潜在的诱导先驱细胞向 adipocytic 路径的功能。相似的,C/EBPs 可能起到一个选择造骨细胞功能方面的作用,Run-2/Cbfa-1 相互作用可以激活造骨细胞转化。

二、骨形成蛋白

(一)BMPs 和它们在造骨细胞中的表达

虽然 BMPs 是由骨骼细胞合成的,但它们并不只限于骨中,原因是它们由各种非骨细胞

表达。在这些组织当中它们在细胞发育和细胞功能方面都有关键性的作用。BMP-1 到 BMP-6 都由造骨细胞系表达。在造骨细胞的培养物中 BMP-2, BMP-4 和 BMP-6 是最容易发现的 BMPs, BMP-2 和 BMP-4 的氨基酸序列有 92% 的相似的活性, 由此具有相似的活性。用激酶依赖的 BMP 删除法实验, 结果显示 BMPs 的位点合成在造骨细胞分化与功能中扮演着一个自催化作用。造骨细胞和软骨细胞中 BMP 表达的转录调节和转录后调节细胞系还没有建立起来。人们观察到这样的现象: 造骨细胞中 BMP 表达的自动调整是明显的, BMP-4mRNA 水平是依赖 BMP 的。BMPs 造成造骨细胞中 BMP-4mRNA 的抑制效应, 说明这是一个自身调节。

(二) BMP, 造骨细胞成熟和破骨细胞形成

BMPs 的基本功能是诱导间叶细胞向造骨细胞系的分化, 并促进造骨细胞成熟和功能。抑制 BMP 活性不仅限制了造骨细胞的分化而且防止了细胞凋亡。在培养的人类造骨细胞中, BMP-2 通过蛋白激酶 C 相关的 Smad-1 独立的机制诱导凋亡。在凋亡过程中, BMPs 的这种效应不仅仅限制于成熟的造骨细胞, BMP 也诱导发育限制的凋亡, 是普通骨骼和联合协同所必需的。此外, BMPs 在造骨细胞中的效果是不同的, 在细胞凋亡过程中的效果也是不同的。

(三) BMPs 和骨骼发育

在骨骼发育过程中 TGF- β 超家族的成员的作用是非常重要的。BMP-5 自然突变的小鼠(短耳鼠)是一个很好的例证, 其多重软骨和骨骼异常, 影响骨骼和中轴骨的发育。为了理解 BMPs 在骨骼发育和非骨骼发育中的作用, 进行了同源重组基因失活实验。缺失 BMP-2 的小鼠不能存活, 原因是胚膜和绒毛膜发育不良, BMP-4 基因敲除小鼠在 6.5~9.5d 死亡。虽然 BMP-6 基因敲除小鼠表现出胸骨的推迟骨化, BMP-2 和 BMP-4 在骨骼发育中的影响更大。不同的 BMPs 基因失活常常造成骨骼外的显著的表型改变, 确证了它们在骨骼外组织中的表达活性。例如, BMP-7 或奥斯蛋白-1 基因敲除小鼠表现出先天性眼球发育不良, 并在出生后短期内死亡。这些小鼠同时也表现出骨骼异常, 包括肋骨融合, 脊骨、头盖骨不正常及多指的发生。

(四) BMPs 和其他生物调节

虽然 BMPs 是属于 TGF- β 超家族抑肽成员, 但是在造骨细胞系中 TGF- β 和 BMPs 并不具有相似的生物活性, 在造骨细胞分化和成熟过程中的作用也不相同。尽管 BMP-2 诱导基质细胞向造骨细胞系转化, 但 TGF- β 并不是这样, 在造骨细胞成熟过程中它们具有与 BMPs 相反的效果。

BMPs 作用需要其他生长因子的协同。在造骨细胞培养过程中, BMPs 增加 IGF-1 和 IGF-2 的 mRNA 水平, 由此 IGF-1 和 IGF-2 通过促进造骨细胞分化与功能协同增加造骨细胞的功能。在骨骼细胞中 BMPs 也调节 IGFbPs 的水平。虽然这些过程中细胞系也发生一些改变, 可是它们可能扮演着一个调整 BMPs 和 IGF-1 在骨中生化代谢活性的作用。Wnts, 与 BMPs 类似, 可以诱导细胞分化, 并通过防止 β -Catenin 降解路径抑制糖合成激酶-3。在生长期骨质积累的过程中低密度脂蛋白受体相关蛋白 5 (LRP 5) 起着关键的作用, 它也是 Wnt 的核心受体。

(五) 骨发生抑制剂 BMP-3

几乎所有的 BMPs 在造骨细胞的分化与功能方面表现出一个正向促进作用,但是 BMP - 3 是一个例外。BMP - 3 也叫成骨素,表现出其他相反的功能。在基质细胞系中,BMP - 3 具有与 BMP - 2 的成骨性效应相反的功能,BMP - 3 基因敲除小鼠表现出骨矿化密度和骨小梁体积非同寻常的高。这一增加的机制与造骨细胞的改变或造骨细胞的数目改变无关,这说明它改变了造骨细胞的活性。BMP - 3 的这种活性似乎是通过 activin 介导的路径完成的,它的结果与 BMP - 2 活性相反,并且并不阻止 BMP - 2 与它自己的受体结合。BMP - 3 和 GDF - 10 基因敲除小鼠并不表现出骨骼变化的表型,说明在骨骼发育过程中,BMP - 3 和它的近缘 GDF - 10 都不表现出明显的作用。

三、骨形成蛋白的受体与信号

(一) BMP 受体

BMP - 2 和 BMP - 4 的受体分成二类: I 类和 II 类;其中 I 类又分成两个亚类 I A 类或 activin 受体样激酶 3 (activin receptor like kinase 3, ALK 3) 和 I B 类或 activin 受体样激酶 6 ALK 6 (activin receptor like kinase 6, ALK 6)。受体系统与配体结合前, II 类受体与 I 类受体结合成一个异源二聚体。BMP - 2 结合到异源受体复合物导致了 Smad 途径的激活,可是由 BMP - 2 诱导的异源受体复合物的形成导致了 MAPK 途径的激活。

BMP 信号的机制,揭示出调节的多水平,包括:①细胞外分泌型与 BMPs 竞争性拮抗剂,以防止它们与受体结合;②从上游 I 型和 II 型 BMP 受体的异源嵌合体复合物的信号,其中配体结合造成 Smad 1/5 路径的激活,可以由抑制 Smads 6 和 7 调节,Smad 结合蛋白, Ski 和 Tob 及 Smurf 1 和 2 的泛素化降解;③从 I 型和 II 型 BMP 受体配体诱导的异源嵌合体复合物的信号,激活 P38MAPK 途径;④非信号 BMP 伪受体, BAMBI。BMP - 2 和 BMP - 4 与 I A 和 I B 型受体结合的亲和力是比较低的,但当 II 类受体存在时亲和力加强了,这一特性是 BMPs 特有的。象 BMP - 7 或 OP 1 这样的一些 BMPs 可以与 activin 受体相互作用,并表现出 activin 样效应,这是除 BMP - 2 受体之外的表现出这种效应的。BMPs 与 I A 和 I B 类受体的结合能力是不同的,不同的细胞上受体表达的水平也不一样。I A 和 I B 类 BMP 受体具有相似的结构,它们的激酶结构域具有 95% 的同源性,依不同的细胞不同,它们的功能区别很大。

(二) BMP 信号—信号传输

Smads: 受体激活之后, BMPs, TGF - β 和 activin 信号转化成 Smads。哺乳动物当中至少已经分离出来了 8 种 Smads。已经发现了 3 类 Smads: ①受体调节型 Smads, 这一类可以被 BMP 或 TGF - β 激活; ②由 TGF - β 和 BMP 共同调节的 Smad; ③抑制型 Smads。Smad 序列呈现出两个大的保守的结构域。在未受刺激的细胞中, 可以有细胞质和微管当中发现 Smad - 1 和与其紧密联系的 Smad - 5。当受到 BMPs 的激活之后, Smad - 1 或 Smad - 5 的羧端丝氨酸磷酸化并在与 Smad - 4 异源二聚体复合物, 然后转运到核。通过受体配体结合后的磷酸化激活, 并激活 Smads 与 Smad - 4 构成异源二聚体复合物, 然后转移到核。虽然现在关于通过 Smad - 1 和 Smad - 5 传导的 BMP 信号的研究很多, 但是对于 Smad - 8 的研究却很少。BMPs 可以诱导 Smad - 8 的表达和磷酸化, 并且 Smad - 8 可以与 Smad - 4 形成二聚体。当 BMP - 2 存在时, Smad - 1, Smad - 5 和 Smad - 8 具有促进软骨细胞成熟的能力, 这提示我们

Smad-8 在软骨细胞分化过程中的角色。Smads 可以与 DNA 序列直接结合,与其他转录元件结合或合作,或在核元件的 DNA 结合位点上结合、取代它们。Smads 可以与 Runx-2/Cbfa-1 相互作用,或可以表现出转录抑制活性。Runx-2 缺失情况下,BMP 激活后 Smad-1 和 Smad-5 不被转位到核。Runx-2 允许 Smads 的重新补充到激活的转录位点上,这一效应与基因的转录相联系。

有胚胎发育,细胞分化和造骨细胞功能等方面 BMPs 都有重要作用。对于维护骨骼完整 BMPs 也起到关键的作用。临床上骨折愈合过程中 BMPs 也是关键因子之一。可是,BMPs 发挥正常的作用需要调节剂与拮抗剂的平衡。与 BMPs 结合或组成 BMP 信号途径的细胞外、细胞内蛋白构成了 BMPs 的平衡机制。它们的合成常常是依赖于 BMPs 的,这说明位点反馈调节机制对于维持 BMPs 和它的拮抗剂的平衡是必需的。将来的研究工作重点应该放在探讨 BMPs 拮抗剂在生理上及骨骼变化过程中的作用方面。可以相信,彻底阐明 BMPs 的分子作用机制,可以为探索骨骼的发育、骨折的愈合及骨骼相关恶性肿瘤的发生、发展机制提供新的思路。

第二节 bFGF 在骨组织再生中的作用

碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)是成纤维细胞生长因子家族中的重要成员,广泛存在于脑、垂体、肝、肾、骨、软骨、角质细胞、血管平滑肌细胞、成肌细胞、星形细胞等组织细胞中。大量研究表明,bFGF 对创伤与组织修复、血管形成、促进组织再生等起着重要作用。

一、bFGF 结构及受体

1984 年 Gospadarowicz 等通过盐沉淀反应,离子交换层析法和肝素琼脂糖亲和色谱分离并纯化出该物质,经过提纯后的脑和垂体纤维生长因子表现出相同的性质,他们有相同的氨基酸组成和无法区别的分子量并且功能相似。垂体纤维生长因子的等电点为 9.6,脑纤维生长因子的等电点为 5.6,前者命名为碱性成纤维细胞因子(bFGF),后者命名为酸性成纤维细胞生长因子(aFGF)。bFGF 由 146~164 个氨基酸组成,与肝素亲和力高,对热和酸敏感。bFGF 含有 4 个半胱氨酸,分别位于第 25、69、87 和 92 位,多数学者认为第 87 和 92 位半胱氨酸形成二硫键对于维持 bFGF 生物活性至关重要。bFGF 降解缓慢,半衰期可长达 10 小时,胞外的 bFGF 与胞外基质(ECM)中大量存在的硫酸乙酰肝素蛋白聚糖(HSPG)结合,HSPG 不仅保护 bFGF 不被降解,而且可延长 bFGF 的半衰期。bFGF 没有信号肽,通过旁分泌或者自分泌出现在胞外基质中。当 bFGF 从细胞内释放后,就在细胞表面和 ECM 中与 HSPG 结合,再通过寡聚化作用使 bFGF 与 bFGF 受体结合,从而诱导 bFGF 信号产生。

二、bFGF 对骨组织的生物学作用

(一)bFGF 对骨祖细胞、原始干细胞的作用和机制

bFGF 是一种广谱有丝分裂原对来源于中胚层及神经外胚层细胞具有明显的促增殖作用,也可以促进骨祖细胞、原始干细胞的增殖。现已证实 bFGF 可以刺激间充质细胞、骨髓基质细胞(BMSC)分裂。在众多生长因子中,bFGF 对 BMSC 具有最强的促增殖作用。bFGF 促细胞分裂的增殖是其与受体结合后激活蛋白激酶 C(PKC),PKC 可促进原癌基因的转录和表达,引起细胞增殖。与此同时,肌醇三磷酸浓度升高后作用于内质网上的受体,释放钙离子,钙离子浓度升高可促进 PKC 活化。同时,活化的 PKC 可直接磷酸化细胞核膜上的核纤层蛋白 B,使有丝分裂过程中核纤层解离,促进分裂。成纤维细胞具有转化为骨细胞的能力。近期研究认为,bFGF 对骨干细胞的作用具有双向性,低浓度促进成骨,高浓度抑制成骨,但在具体浓度上仍然没有得到确切的认定。

(二)bFGF 对成骨细胞的作用和机制

bFGF 广泛存在于骨组织中,对细胞增殖、分化功能和细胞存活的调控以及对成骨细胞表型和特异性细胞蛋白表达的调节等都有作用。成骨细胞起源于中胚层,表面存在着受体,当 bFGF 与受体相结合后,可以促使其向成骨细胞转化。郭勇等以重组牛 bFGF 刺激体外培养的大鼠成骨细胞,结果表明 bFGF 可促进大鼠成骨细胞增殖,并且提高 c-fos 基因的表达量。Kotev-Emeth 等在骨髓基质细胞培养过程中,用地塞米松和 bFGF 共同处理成骨细胞,发现细胞数量明显增加,并且细胞表型特征明显。尽管许多学者已证明 bFGF 可以刺激成骨细胞分化,但也有很多学者有不同观点,Rodan 等在具有成骨细胞特性的骨肉瘤 ROS17/2.8 细胞系中加入 bFGF,反映成骨细胞分化特性的 ALP、骨钙素、I 型胶原的 mRNA 表达均减少。有学者发现,bFGF 可以促进成骨细胞与基质的黏附,认为是细胞增殖的条件,可能与其促进成骨细胞表达的 p1 整合素受体增加有关,这种黏附特性的差异将影响细胞进一步增殖分化。

(三)bFGF 对软骨细胞的作用和机制

bFGF 可以直接刺激体外培养的成软骨细胞的增殖和分化,使其转化为软骨细胞或使成软骨细胞自身数量增加,又通过软骨性成骨,使钙盐沉积,转化成骨性结构,形成新骨。培养的软骨细胞只有在 bFGF 作用下才能保持其分化形态,产生硫酸软骨素糖蛋白和 II 型胶原蛋白,否则很快变为成纤维细胞样外观。杜俊杰等通过动物模型实验,发现在体内,bFGF 可增强或抑制 BMP 的骨诱导、骨形成作用,其间存在一定的量效关系。认为 bFGF 增加 BMP 成骨作用的机制可能是促进需要血供的软骨内化骨,加速软骨的成熟和骨化。刘克宇等尝试在兔的膝关节软骨缺损区应用 bFGF,表明 bFGF 可以有效修复兔关节软骨的缺损。Saldanha 等实验证明,bFGF 能促进关节软骨细胞分裂增殖与 DNA 合成有关。付勤等通过 bFGF 调节卵磷脂和多聚赖氨酸共同包埋的聚乳酸三维支架与兔关节软骨细胞的体外培养,观察 bFGF 对组织工程软骨细胞生长的调节作用,认为 bFGF 能够促进组织工程软骨细胞的增殖,并具有增强软骨细胞功能的作用。Arevalo-Silva 等发现应用 bFGF 体外培养大量扩增软骨细胞,这些细胞仍维持软骨细胞表型,应用 bFGF 体外扩增的第 2 代软骨细胞在自体体内有很好的构建软骨能力。

(四)bFGF 促进新生血管形成

bFGF 作为一种毛细血管增殖刺激剂,在刺激毛细血管内皮细胞迁移和增殖的同时,促进纤溶酶原激活物的分泌,降解损伤部位的部分细胞外基质,促使毛细血管向断端及移植物

中长入,提供营养、运送钙质,将骨折早期机体应激产生的降钙素、甲状旁腺素、维生素 D₃ 运至损伤区,使骨修复早期的组织中软骨岛数量增多,并使断端骨痂和骨移植物中血管重建时限提前,从而促进需要血供的软骨性成骨,加速软骨痂的成熟和骨化。Tischer 等应用 RNA 印记法测量 VEGF 的 mRNA 表达,发现加 bFGF 组是对照组的 5~10 倍。张春礼等观察 bFGF 促进冻干肌腱移植重建前交叉韧带(ACL)后早期血管生成作用,发现复合 bFGF(100ng/ml 浓度)的冻干肌腱移植重建 ACL 后,在新血管形成的时间及长入肌腱的深度方面优于对照组。研究表明,bFGF 能同时参与血管形成和动脉形成两个过程,而酸性成纤维细胞生长因子则仅参与血管形成过程,血管内皮细胞生长因子则与血管形成和脉管形成过程有关。大量研究表明,bFGF 冠状动脉内注射、左心房内注射、全身动脉注射、血管周灌注、心肌内注射和心包内给药等都能促进局部血流或血管再生。聂绍平等采用纤维蛋白胶在心肌内控制释放 bFGF 的血管再生治疗安全可行,能有效促进缺血心肌内的血管再生和侧支重构。

三、bFGF 与其他因子的相互作用

骨组织的代谢是由多种因子同时参与调节的,有学者在胎牛骨和鼠颅盖骨中发现 bFGF 和转化生长因子(TGF- β)有协同作用。bFGF 与 TGF- β 在鼠生长板及骨痂中的分布极为相似,都是局部调节软骨再生的因子,在成骨细胞与生长板软骨细胞的增殖中则起协同效应。TGF- β 还同 bFGF 共同维持软骨特异的蛋白多糖和 I 型胶原合成。冯萍等观察 TGF- β 1 和 bFGF 单独或联合应用对人牙周膜成纤维细胞增殖的影响,认为 TGF- β 1 和 bFGF 两者联合具有促进人牙周膜成纤维细胞增殖的作用。刘宏伟等通过研究重组人碱性成纤维细胞生长因子(rhbFGF)、重组人转化生长因子 β 1(rhTGF- β 1)和重组人骨形成蛋白-2(rhBMP-2)单独和联合使用,对骨髓基质细胞(BMSC)碱性磷酸酶(ALP)活性和钙化能力影响,表明 rhBMP-2(200 μ g/L)单独应用和 rhbFGF(1 μ g/L)在此浓度下结合使用可以提高体外培养骨髓基质细胞的钙化能力。很多学者发现 bFGF 与其他生长因子的作用多具有双向性,表现为低浓度互相促进,高浓度互相抑制,但具体机制不明,有待进一步研究。总之,由于 bFGF 在促进成骨和成血管中可发挥重要生物学作用,因此具有广泛的临床应用前景。近年来,许多学者致力于研究 bFGF 对细胞因子表达的影响和与其他因子协同作用的分子机制,从而研制出更有效的载体缓释系统应用于骨组织工程。

第三节 促进骨合成代谢的药物

随着世界人口的老龄化,原发性骨质疏松症已成为老年人尤其是绝经后妇女常见的全身性骨病。目前治疗骨质疏松症的药物分为以抑制骨分解代谢为主和以促进骨合成代谢为主的两大类。

一、氟化物

用氟化物治疗骨质疏松已有 40 年的历史,但目前应用并不广泛。原因之一是在早期的

临床研究发现应用氟化物治疗的患者椎体骨折的发生率并未减少。近年临床研究显示,剂量适当的氟化物能在提高骨密度的同时降低骨折率。此外,氟化物与抗骨吸收药物如双磷酸盐类或雌激素受体调节剂雷诺昔芬联合应用,在升高骨密度、减少骨折发生率方面明显优于单独用药。

二、甲状旁腺激素及甲状旁腺激素相关肽

甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)是维持机体钙磷代谢平衡的一种重要的调钙激素,是重要的骨形成促进剂。PTH与受体结合后,通过活化cAMP依赖的蛋白激酶A及钙离子依赖的蛋白激酶C信号传导途径发挥生物作用。PTH通过促进成骨祖细胞增生分化、直接抑制成骨细胞凋亡延长成骨作用时间、促进衬里细胞向成骨细胞转化及刺激成骨细胞产生促进胰岛素样生长因子I(Insulinlike Growth Factor I, IGF-I)和转化生长因子发挥其骨合成效应。PTH促进骨骼合成代谢作用基于低剂量及间歇给药方式。PTH间歇给药主要增加小梁骨,以及小梁骨和骨皮质微结构参数的改良。PTH大剂量应用时,一方面引起破骨细胞广泛活化,另一方面成骨细胞的功能受到抑制。临床研究表明,PTH可使骨密度增加,再次发生骨折的危险性降低,不良反应较少,主要有恶心、头痛和头晕。Chuengsamarn认为,由于夜间PTH血浆水平比餐后补钙者高,睡前给PTH加补钙的方法倾向于减轻骨吸收。2002年礼来公司生产的特立帕肽rhPTH1.34已被美国FDA批准作为骨质疏松的治疗药物。作为一种新型的骨形成促进剂,PTH与骨吸收抑制剂的联合应用问题也引起关注。PTH1.34与雌激素合用作用强于二者单独应用。PTH应当与钙、维生素D同时使用,并可以联合激素替代治疗。阿伦磷酸钠与PTH同时应用治疗骨质疏松,疗效并不强于单独应用;双磷酸盐会减弱PTH刺激骨形成、增加骨密度的能力。多数学者认为PTH不应与双磷酸盐类药物同时应用,甚至先前用过的双磷酸盐类药物也会减弱PTH的骨形成作用;建议在PTH应用1年半至2年停用后,再给予双磷酸盐类巩固其作用。未证实PTH与降钙素的交替使用有效。PTH的作用机制,合理有效的给药时间、剂量、剂型及药物对皮质骨生物力学影响等方面,特别是对老年患者的最小有效剂量、长期应用的安全性、骨组织对PTH的抵抗、联合药物应用、连续注射和周期注射效果的比较、以及对内源性PTH分泌的影响等仍有待继续深入研究。甲状旁腺激素相关肽(PTHrP)因其氨基末端结构和功能与PTH十分相似而得名。动物实验证明它确实可以促进大鼠的骨骼形成,Horwitz等的临床试验表明,血清骨钙素升高,反映骨吸收的脱氧吡啶啉等无升高,而且大剂量(超过PTH 10~20倍)用药对内环境矿物质的稳定没有不良影响,也未出现明显副作用。这可能是因为PTHrP吸收和清除速度比PTH快,因此认为PTHrP只选择性地刺激骨形成,不激活甚至降低骨吸收过程,是一种优于PTH的纯粹的骨形成促进剂。

三、锶制剂

雷尼酸锶是一种具有双重功效的抗骨质疏松制剂,可以促进成骨细胞分化,阻碍破骨细胞形成,通过促进骨形成抑制骨吸收来增加骨强度,从而使骨交换达到平衡。于2004年11月在爱尔兰上市,同年12月在英国上市。雷尼酸锶有明显的早期1年后和持续3年后抗骨折功效,在3年的雷尼酸锶治疗中骨矿物质密度呈线性增长。人体对雷尼酸锶的耐受性较

好。因此,口服 2g/d 雷尼酸锶对治疗有或没有脊椎骨折史的绝经期妇女骨质疏松症是一种有效、安全的方法。雷尼酸锶可能的作用机制是通过降低骨吸收、增强骨生成来维持平衡。目前的假设包括细胞协调机制来控制骨细胞的分化和活性。因为雷尼酸锶已被证明可以增强体外成骨细胞的复制能力,从而增强骨生成,并降低破骨细胞分化与吸收活性。而且它可以活化骨细胞表达的细胞外阳离子信号通道受体,包括 Sr^{2+} 在内的二价阳离子可以激活骨细胞。此外,体外研究表明,雷尼酸锶刺激成骨细胞的作用与经由 HEK293 细胞介导的钙感知受体(HEK calcium sensing receptor, HEK CaR)有关。

四、生长激素与胰岛素样生长因子

生长激素(Growth hormone, GH)通过成骨细胞的相关受体直接发挥作用,也通过 IGF-I 的合成间接发挥作用。IGF-I 在局部可以促进软骨细胞及成骨细胞的分化增殖,并参与骨形成和骨吸收的偶联,使骨不断更新。二者不仅增加骨形成,同时也激活整个骨转换过程。从理论上讲,IGF-I 能更直接地刺激骨形成,避免可能出现的骨骼生长激素抵抗,减少生长激素引起的腕管综合征、糖尿病等副作用,在治疗骨质疏松方面应当比生长激素更有优势。GH 可明显升高全身及股骨颈骨密度,对骨有滞后的、延长的剂量依赖性作用,且副作用很少。不同剂量的 IGF-I 对骨形成的作用可能不同。高剂量治疗组[60mg/(kg·d)]的骨形成和骨吸收生化标志物均升高;低剂量组[15mg/(kg·d)]可以直接增强成骨细胞功能而最小限度地增加骨吸收。Boonen 等的试验表明:rhIGF-I 及其结合蛋白的复合物 rhIGF-I/IGFBP 3 可增强 IGF-I 的作用并增加其安全性。需要注意的是,过量或长期使用 GH 和 IGF-I 有潜在致癌作用,尤其是可能引起结肠癌、乳腺癌、前列腺癌。IGF-I 通过触发其他生长因子或与已经证实有致癌或加速癌变的路径相互作用,加速了细胞周期进程,抑制了细胞凋亡。这些是 GH 和 IGF-I 真正应用于临床治疗骨质疏松的障碍之一。

五、他汀类

基础研究认为,他汀类药物有促进成骨、增加松质骨骨量及抗压强度、可能抑制骨吸收的作用。临床研究认为,他汀类药物可增加骨密度,提高骨的合成代谢生化指标,降低骨折的危险性。但仍然有部分试验不支持他汀类药物对骨代谢的正性作用,尤其在降低骨折危险性上分歧较大。再者,他汀类药物首先在肝脏进行代谢,在活体上只有很少量进入骨细胞,还需在药代动力学上加以调整以增强其促进骨形成的作用,且不削弱其他有益的作用。

六、瘦素

瘦素是一种能引起摄食减少、体内能耗增加的抗肥胖因子,近来的研究表明它同样参与了骨形成的调节。瘦素在中枢是抑制骨形成的。Ducy 等发现,瘦素缺陷的 ob/ob 小鼠和瘦素受体缺失的 db/db 小鼠,尽管存在皮质醇增多症及雌激素缺乏,但骨密度明显增高,骨形成速率增加,比野生型小鼠骨量增加 40%。在 A ZIP/F1 转基因小鼠模型中,瘦素水平低,骨量增加但体质量轻。因此,瘦素导致骨量增加不是由于体质量增加机械负荷刺激的结果。将瘦素注入瘦素缺陷的 ob/ob 小鼠脑室内,发现骨量下降,骨生成率降低,降至与野生型小鼠骨量相同的水平;ob/ob 小鼠成骨细胞合成的骨小梁和胶质与野生型小鼠无明显差异,提

示在体内瘦素并不直接作用于骨。瘦素抑制骨形成的中枢神经通路与硫葡萄糖敏感的神经元有关,与瘦素抑制食欲效应的促黑色素和促阿黑皮素原途径无关。交感神经系统参与了该途径。瘦素在外周是促进骨形成的。骨细胞有瘦素受体表达,瘦素可直接作用于成骨细胞,促进其分化和成熟。瘦素抑制破骨细胞产生,可能是通过提高在外周血单核细胞中骨保护素(osteoprotegerin, OPG) mRNA 和蛋白质表达,作用于 RANKL/RANK/OPG 系统,降低 RANKL mRNA 表达水平。瘦素是骨重建的重要调节剂。但它在骨重建过程中的作用尚无定论。

七、雄激素

观察表明飞行大鼠在经历空间飞行后,大鼠体内的雄激素水平有明显的下降。血清雄激素水平在尾吊成熟大鼠也显著下降。这可能一定程度的造成失重诱导的骨量丢失。雄激素对骨的作用有两种方式:

(1)用于成骨细胞的雄激素受体,但由于受体直接作密度较低,须较大量的雄激素与受体结合,才发挥有刺激成骨细胞的功效;

(2)雄激素经芳香化酶作用转化为雌激素,再作用于雌激素受体。雄激素促进成骨细胞及肌肉的合成代谢也降低骨转化。Wimalawansa 等认为雄激素能缓解尾吊大鼠及失重状态下人骨形成的下降及骨量丢失。所以适当使用雄激素可一定程度地缓解失重性骨量丢失。

八、环孢素 A

环孢素 A 是用于器官移植后的免疫抑制剂,通过抑制钙调神经磷酸酶(calcineurin, Cn)和激活 T 细胞核因子(the Nuclear Factor of Activated T Cells, NFAT)发挥作用。环孢素对骨形成具有双向作用。一种观点认为环孢素抑制了 Cn/NFAT 信号传递,从而阻碍了骨形成,但未得到较多临床报告和动物试验的充分支持。性别、给药剂量、基础炎症活动都用来解释这些看起来相互矛盾的结果。Hyeonju 等研究了不同浓度的环孢素对骨形成、成骨细胞分化的效应,阐明了 NFATc1 在这个反应中的作用。低浓度的环孢素(体外 $< 1 \mu\text{mol/L}$, 体内 $< 35.5 \text{ nmol/L}$)促进骨形成与成骨细胞分化,增加骨物质;而高浓度的环孢素(体内体外均 $> 1 \mu\text{mol/L}$)则促进了骨吸收。

九、高选择性 EP4 受体激动剂庚酸内酰胺

经过高通量筛选证实为高选择性 EP4 受体激动剂,体外试验表明它的 EP4 激动效应提高了 30 倍。对去卵巢骨质疏松大鼠的试验表明它有促进骨合成代谢的作用。

十、中药

很多中药具有抗骨质疏松作用,如植物雌激素类和补肾类中药:淫羊藿、葛根、蛇床子、地黄、骨碎补、黄芪、补骨脂、龟板、牛膝、杜仲、鹿角胶、山药、牡蛎、当归、菟丝子、山萸肉、茯苓、白术、肉苁蓉、党参、紫河车、丹参、枸杞子等等。淫羊藿总黄酮 HEF 对促进骨形成和抑制骨吸收都具有重要意义。葛根素可提高骨组织的内硬度,对预防腰椎压缩性骨折可能有益。蛇床子总香豆素的成分之一蛇床子素能提高去卵巢大鼠股骨骨密度,具有抑制骨吸收、

促进骨形成的作用,对预防和治疗骨质疏松有重要意义。以上中药的抗骨质疏松作用仍需要进一步研究和通过临床试验检验其效果。随着对骨质疏松症认识的不断深入,骨合成代谢促进剂越来越引起专家学者的重视,并且会有广阔的开发应用前景。

第四节 他汀类药物对骨形成的作用

一、他汀类药物的结构和特性

他汀类药物是胆固醇合成途径中限速酶 3 羟基 3 甲基戊二酰辅酶 A(HMG CoA)还原酶的抑制剂,可通过对 HMG CoA 还原酶的抑制作用起到减少胆固醇合成的目的,目前临床上广泛应用于降低胆固醇和预防心血管疾病。在降低血脂的作用之外,有研究还发现他汀类药物有很多其他作用。可以减少平滑肌细胞的移行和增殖,抑制肿瘤生长和转移,导致细胞周期停滞和程序性死亡,影响细胞外基质的表达,减少有丝分裂过程中的异常,抑制 Ca^{2+} 信号途径的诱导。在研究中还发现他汀类药物表现出调控骨形成发生蛋白 2(BMP-2)基因的表达,调节骨代谢、炎症和血管发生等作用,促使人们对他汀类药物有了新的认识。他汀类药物潜在的对骨骼的作用已成为近年来研究的热点,其中多数实验结果肯定了其促进骨形成和抑制骨吸收的作用,但也有一部分实验未得到同样结论。现在大家基本认同的是,在鼠类的研究中,他汀类药物可以通过一系列的分子最终作用于 BMP-2,并刺激其表达。

二、促进骨形成

体外实验 1999 年, Mundy 等在研究了 3 万多种化合物后发现他汀类药物可以增强 BMP-2 启动子活性,而骨形态发生蛋白 2(BMP-2)是公认的成骨细胞转化促进因子,具有较强的促进骨形成的作用。因此推测他汀类可作为促进成骨细胞分化和骨形成的物质。Sugiyama 等报道亲脂性的他汀类,如辛伐他汀和美伐他汀等可以增强 5' 人 BMP-2 启动子基因部分植入的人骨肉瘤细胞的 BMP-2 启动子的活性,增加 BMP-2 mRNA 的表达以及在人骨肉瘤细胞中蛋白的含量,但水溶性更强的普伐他汀未表现出类似作用。HMG CoA 还原酶还可以影响 GTPase 活性, GTPases 包括 Rho、Rac 和 Rap 等,现已证明他汀类还可以抑制 Rho 相关激酶(Rho associated kinase)活性,增加 BMP-2 和骨钙素的表达。他汀类药物还可以影响 NOS(一氧化氮合酶)的作用,通过上调 NOS 的活性,促其表达而后增加 BMP-2 的表达,起到促骨形成作用。Maeda 等用他汀类药物辛伐他汀体外干扰成骨细胞系(MC3T3 E1)和大鼠骨髓基质干细胞(BMSC),发现辛伐他汀可通过促进成骨细胞分化影响骨的形成。Song 等证实辛伐他汀可在体外促进大鼠骨髓基质干细胞的成骨分化。在 Baek 等以人的骨髓基质干细胞为对象的研究中发现 10^{-6}mol/L 辛伐他汀可促进基质矿化和增加 ALP 活性,促进人的骨髓基质干细胞向成骨细胞分化。Maeda 等发现辛伐他汀和西立伐他汀可下调 MMP-1 和 MMP-13 的表达,提示辛伐他汀可以通过抑制基质金属蛋白酶家族成员活性来调节骨改建。Thunyakitoisal 等研究发现辛伐他汀减少成骨细胞和 HT1080 纤维肉瘤细胞