

2002, 57: 103-108.

20 Berlemann U, Kubli R, Moore RJ. Regeneration of the atlanto axial joints. *Acta Orthop Scand*, 2002, 73(2): 130-133.

21 Taitz C, Arensburg B. Vertebral artery tortuosity with concomitant erosion of the foramen of the transverse process of the axis. *Acta Anat*, 1991, 141: 104-108.

22 Takakuwa T, Hiroi S, Hasegawa H, et al. Os odontoideum with vertebral artery occlusion. *Spine*, 1994, 19(4): 460-462.

23 Schöning M, Harting B. The development of hemodynamics in the extracranial carotid and vertebral arteries. *Ultrasound in Med & Biol*, 1998, 24(5): 655-662.

24 李义凯, 张云昆, 钟世镇. 颈后伸对椎动脉流速影响的研究和意

义. *中国康复医学杂志*, 1998, 13(3): 101-103.

25 Grossman RI, Davis KP. Positional occlusion of the vertebral artery: A rare cause of embolic stroke. *Neuroradiology*, 1982, 23: 227-230.

26 Brandt T, Bronstein AM. Cervical vertigo. *J Neurosurg Psychiatry*, 2001, 71: 8-12.

27 Frütz Ritson D. Assessment of cervicogenic vertigo. *J Manipulative Physiol Ther*, 1991, 14: 193-198.

28 Nightingale RW, Winkelstein BA, Rraub KE, et al. Comparative strengths and structural properties of the upper and lower cervical spine in flexion and extension. *J Biomech*, 2002, 35: 725-732.

29 Dreyfuss P, Michaelsen M, Fletcher D. Atlanto occipital and lateral atlanto axial joint pain patterns. *Spine*, 1994, 10: 1125-1131.

(收稿日期: 2003-08-01 本文编辑: 李为农)

细胞黏附与骨发生

Cell's adhesion and osteogenesis

李文革¹, 徐莘香²
 LI Wenge, XU Shexiang

关键词 细胞黏附; 骨发生 **Key words** Cell adhesion; Osteogenesis

在生物体内细胞黏附是指细胞与细胞之间的黏附, 是细胞之间信息交流的一种形式, 是多细胞生物维持本身的形态结构及功能极为重要的生物学现象, 它包括细胞分裂、细胞增殖、基因表达、分化、凋亡及移行等细胞行为。细胞黏附, 细胞与细胞外基质的黏附, 是由位于细胞表面参与信息交流的可溶性递质——黏附分子介导的。黏附分子是一类独特的分子结构, 可识别与其附着表面的特异性受体而发生相互间的黏附现象。

1 黏附分子的种类及性质

近年来由于单克隆技术的应用已鉴定出多种与细胞黏附有关的黏附分子。根据其结构不同可将其分为 5 个家族, 预期随着研究工作的不断深入将有更多的黏附分子被鉴定和阐明。

1.1 整合素家族(integrin superfamily) 整合素是一族细胞表面分子, 介导细胞与细胞间、细胞与细胞外基质间的相互作用或黏附。它由 α 链和 β 链构成的异二聚体(heterodimer), α 链分子量为 $(1.4 \sim 2.0) \times 10^5$, 有 11 种, 其外部有多个与 2 价阳离子和钙离子结合部位; β 链有 8 种形式, 分子量为 $(0.9 \sim 1.1) \times 10^5$, 分为 $\beta 1, \beta 2, \beta 3$ 亚家族。 $\beta 1, \beta 3$ 分布很广, 主要参与细胞与基质间的表达。其配体为细胞外基质中各种成份, 如胶原、纤维连接蛋白等。 $\beta 2$ 整合素又称为 CD18 抗原, 只分布在白细胞上, 其主要参与白细胞间反应, 对机体的防御功能十分重要。

1.2 免疫球蛋白家族(immunoglobulin superfamily) 该家族黏附分子均含免疫蛋白 Ig 区段, 主要参与不同细胞间的识别与黏附。它包括: 细胞间黏附分子(ICAMs, ICAM2, ICAM3),

血管细胞黏附分子(VCAM-1), 淋巴细胞功能相关抗原(LFA-2 和 LFA-3), 细胞-细胞黏附分子(C-CAM), 血小板或内皮细胞功能抗原。本族黏附因子在胚胎发育过程中起重要作用, 是机体参与免疫应答的重要分子群。

1.3 选择素家族(selectin superfamily) 主要分布于白细胞、血小板及血管内皮细胞, 在血细胞与血管内皮细胞, 血细胞与血细胞间黏附过程中起重要作用。它包括: ①L-选择素在淋巴细胞、单核细胞及中性粒细胞上固有的表达。②E-选择素由 30~40 个氨基酸构成, 可作为白细胞的受体, 使白细胞向内皮细胞黏附, 与炎症时白细胞向血管内皮的黏附有关。③P-选择素也称颗粒蛋白。140 KD, 在 N 末端侧含有 117~120 个氨基酸。选择素受体是外源凝素样蛋白。

1.4 钙依赖性黏附素家族(cadherin superfamily) 钙依赖性黏附素是依赖于 Ca^{2+} 存在的单向跨膜蛋白, 主要介导细胞与细胞间的黏附。近年来已发现 20 余种钙黏附蛋白, 根据其结构及分布可分为 E 型(分布于上皮组织)、P 型(分布于胎盘组织)、N 型(分布于神经组织)。钙黏附蛋白黏附方式为同种黏附, 具有特异性、选择性参与细胞黏附, 它在胚胎发育过程中组织形成是至关重要的。钙黏附蛋白的失活将引起细胞-细胞连接的破坏。肿瘤组织中, 钙黏附蛋白的缺乏可造成原发肿瘤的游离, 推测其可能与肿瘤的浸润和转移密切相关。

1.5 H-细胞黏附分子超家族(H-CAM superfamily) H-CAM 最初认定为淋巴细胞“归巢”受体, 为单向跨膜蛋白, 存在于多种类型细胞内。CD 44 是透明质酸类的主要受体, 在内皮、上皮、软骨细胞、纤维母细胞及白细胞上均有表达, 介导这些细胞与透明质酸的黏附, 同时可调解细胞移行和细胞的形态, 此外, CD 44 又称 ECM 受体, 与胶原蛋白和纤维粘连蛋白等细胞外基质结合。

1. 北京大学深圳医院骨科, 广东 深圳 518036; 2. 吉林大学第一医院骨科

2 细胞黏附的生物学基础

2.1 细胞凝集及移行 由细胞黏附所介导的细胞形态上的移行过程又叫凝集(condensation),在这移行(transition)中,这些松散的被细胞外基质包绕的间充质样细胞紧密凝集在一起,并沿着细胞表面广泛而密切接触。使间充质细胞-上皮样细胞相互作用,这种现象存在于正在发生(进化)的组织中^[1]。细胞与细胞间粘连主要由钙黏附蛋白介导,它在软骨生成及胚胎体节的形态发生中都是至关重要的。N-cadherin 在不同的细胞亚群中表达可引起各自的细胞分化。凝集可以加强细胞之间的识别及分化过程,从而使细胞分化为不同的组织。黏附分子通过与细胞骨架(肌动蛋白)相连接,参与调节细胞的功能。

2.2 细胞再排列 组织在形态上的变化常常与广泛的细胞移行有关^[2],细胞既可独立移行,也可以作为组织的一部分移行,而长距离的移位常常沿着基底膜或细胞外基质进行的,而整合素家族参与移行调控,组织的形态变化主要是由于局部细胞再次排列导致的,这种现象在两栖类胚胎中神经胚及脊索形成中尤为显著。细胞重新排列仍然存在着细胞之间的相互交流,相互运行。在对蟾蜍原肠胚研究中发现,E-钙依赖性黏附素与细胞再排列有关,调控组织延长、汇集、扩展运动。

3 细胞黏附因子在软骨生成中作用

3.1 软骨的胚胎发生 在肢体形成过程中,由于中胚层及外胚层相互作用而导致形成肢胚雏型,继发的生长又导致肢芽的形成,肢芽不仅能分化为各种不同的间充质细胞,同时也接收移行而来的胚体壁细胞及神经,最后形成具有功能的骨骼、肌肉、肌腱、韧带。未来的骨骼肢体的发生形式及定位是由中胚层决定的。肢体的间充质在初始阶段是均匀的散在的细胞排列。随着顶端外胚层(AER)在肢芽尖端的形成,在此下的细胞就形成了软骨生成层。在胚芽 22~24 期间,胚芽的中心部位细胞密度升高而形成的软骨前凝集,进而软骨前凝集又形成肢体软骨的原基,最后,软骨内骨化将替代这些软骨原基而形成骨。

3.2 钙黏附蛋白与在软骨生成中的作用 Stott 等^[3]在体外高密度微球培养鸡胚肢芽间充质细胞向软骨转化过程中,根据细胞形态的变化,将分化过程分为 5 个时期:①细胞分离期;②小聚集期;③集落形成期;④凝集期;⑤软骨小结形成期。用 BMP 可促进凝集期细胞的形成,为体外观察不同的刺激因子在不同的时相上刺激软骨生成,提供了理论依据。Yajima 等^[4]在不同时期鸡肢芽间充质细胞分化中发现,细胞黏附力的不同,可能依赖于各自处于近-远轴的位置,而哪类分子决定其分化呢?N-钙依赖性黏附素(N-cadherin)是参与此分化过程,而且可能是肢体生长期近远端分化形式主要机制之一。这种蛋白分子的分布将沿此轴可产生不同的形状及数量的软骨成分。Oberlender 等^[5]于 1994 年在鸡胚软骨诱导中发现 N-cadherin 介导了细胞与细胞之间的相互作用,主要表达于凝集期,用此分子的抗体可部分或全部封闭软骨生成,表达主要位于凝集中心区,与软骨小结形成后 II 型胶原的表达相一致。意大利学者 Tavella 等^[6]在鸡胚软骨发生中发现 N-cadherin 与 N-CAM 具有协同调控分化软骨的作用。本实验采用 Northern blot and Southern blot 方法证实两

种分子在成软骨前细胞中均表达,在细胞聚集期升高,在肥大软骨细胞时未表达,而至成骨细胞期再次表达。免疫化学定位也证实 N-cadherin 可表达于 II 型胶原阳性或阳性区,而 N-CAM 则与 II 型胶原表达相排斥,位于凝集区周边。这些现象表明 N-cadherin 启动了细胞-细胞之间的相互作用,而 N-CAM 则稳定了这种状态,提示两种因子具有协同作用。

3.3 N-CAM 在软骨生成中的作用 Randall 等^[7]在研究对 N-CAM 在软骨生成过程中其表达时期上发现,N-CAM 则短暂表达于软骨前凝集区,而在向软骨分化中消失,抗 N-CAM Fab 片段可明显抑制凝集形成及软骨生成量,用 N-CAM 转染细胞后可提高 NCAM 表达及软骨小结的形成。表明 N-CAM 不仅介导了凝集的形成,而且具有促进软骨生成的作用。

3.4 整合素与软骨生成 随着对 N-cadherin 和 N-CAM 介导的细胞与细胞之间的黏附在骨发生中作用的不断深入研究及理解,许多学者又对整合素家族在软骨及骨生成中的作用作了深入探讨。Loeser^[8]认为细胞外基质与软骨细胞之间贮藏着丰富的信息,ECM 对调解软骨静态平衡及修复如细胞接触、生长、分布及生存起着重要的作用。软骨细胞可表达几种整合素的亚型,同时整合素可传导机械性刺激及软骨细胞内信号从而影响软骨细胞的基因表达,调控软骨细胞的功能。Shakibaei 等^[9]在体外胎鼠的间充质的软骨诱导中发现,制备抗整合素的抗体可明显抑制间充质细胞向软骨细胞的分化,而且主要作用于培养阶段 1~3 d,而晚期则未见任何结果,而其它亚型抗体均无此效果,这表明整合素在软骨分化及早期软骨诱导过程中细胞与基质之间的相互作用起关键性作用。Hirsch 等^[10]在体外培养鸡胸骨软骨细胞中证实整合素各个亚型,不仅能封闭胸骨生长及 X 型胶原的沉积,同时软骨细胞形态明显变小,肌动蛋白破裂,凋亡显著提高。

4 细胞黏附分子与骨生成中作用

4.1 N-CAM 与骨生成 Lee YS 等^[11]在研究中发现发育中成骨细胞可短暂表达 N-CAM,预示 N-CAM 与成骨细胞之间有潜在的相互关联。1992 年,他又进一步在骨形成中发现 N-CAM 强烈表达沿着骨小梁排列的成骨细胞中,并与 I 型胶原及碱性磷酸酶的活动一致。在软骨内化骨中,N-CAM 存在于胫骨、椎体骨骺及干骺端,在膜内化骨中,N-CAM 存在于颅盖骨骨源性凝集区及胫骨骨骺的骨膜。但由于 N-CAM 在骨源性凝集形成之前,并不表达于间充质细胞。所以,其表达非常短暂,晚期 N-CAM 在骨细胞中消失,N-CAM 主要存在于成骨细胞膜表面。这些结果均表明 N-CAM 介导了成骨细胞间相互作用,并调控骨骼的形态发生。

4.2 N-cadherin 与骨生成 Ferrari 等^[12]在分化的成骨细胞表型研究中,对 N-cadherin 在成骨细胞功能中作了初步研究,通过原位杂交,免疫组织化学定位,发现 N-cadherin 主要在分化良好的成骨细胞中。在对原代培养的胎鼠颅盖骨,人的 SaOS-2 及鼠 ROS 成骨细胞样细胞作 Northern blot 杂交中表现出 N-cadherin mRNA 表达与细胞与细胞黏附形态分化、碱性磷酸酶、骨钙素的表达密切相关。用 N-cadherin 的黏附基序 HAV 的合成肽可显著地减少骨小结的形成,抑制

细胞-细胞之间的接触,用显性的 N-cadherin 突变体 (NCAD del Δ c) 短暂转染 SaOS-2 细胞可明显抑制其形态上的分化。以上表明 N-cadherin 对成骨细胞表型维持及成骨细胞分化调控起一定的作用。

4.3 整合素与骨生成 人们对整合素在骨发生的作用机制尚缺乏充足依据。Hughes 等^[13] 用免疫组化方法对三种人骨:骨、肿瘤反应骨、新生肋软骨中整合素不同亚型定位作初步研究,结果表明三种类型骨中均表达 β 1、 α 5 整合素,破骨细胞表达 α 2、 α V、 α V、 β 3 整合素,从而推测 Integrin 介导了骨基质中成骨细胞与破骨细胞之间多种相互作用。Gronthos 进一步探讨了人的成骨细胞对不同的细胞外基质成份的黏附作用,发现成骨细胞可优先与纤维连接蛋白、I 型胶原、IV 型胶原黏附,并证明整合素在介导成骨细胞与胶原层粘连蛋白、纤维连接素的黏附担任重要角色,但整合素与成骨细胞生长、分化及对表型的调控仍要进一步研究及丰富。

参考文献

- 1 Kittredge R. Paraphrasing for condensation in journal abstracting. J Biomed Inform, 2002, 35(4): 265-277.
- 2 Keller R, Friedrich HJ. Cell rearrangement in morphogenesis. Zool. Sci, 1987, 4: 763-779.
- 3 Stott NS, Jiang TX, Chuong CM. Successive formative stages of precartilaginous mesenchymal condensations in vitro: Modulation of cell adhesion by Wnt 7A and BMP-2. J Cell Physiol, 1999, 180(3): 314-324.
- 4 Yajima H, Yoneitamura S, Watanabe N, et al. Role of N-cadherin in

- the sorting-out of mesenchymal cells and in the positional identity along the proximodistal axis of the chick limb bud. Dev Dyn, 1999, 216(3): 274-284.
- 5 Oberlender SA, Tuan RS. Spatiotemporal profile of N-cadherin expression in the developing limb mesenchyme. Cell Adhes Commun, 1994, 2(6): 521-537.
- 6 Tavelle S, Raffo P, Tacchetti C, et al. N-CAM and N-cadherin expression during in vitro chondrogenesis. Exp Cell Res, 1994, 215(2): 354-362.
- 7 Randall B, Widelitz, Ting Xin Jing. Adhesion Molecules in skeletogenesis. J Cellular Physiology, 1993, 156: 399-411.
- 8 Loeser RF. Chondrocyte integrin expression and function. Biorheology, 2000, 37(1-2): 109-116.
- 9 Shakibaei M, Merker HJ. Beta α integrins in the cartilage matrix. Cell Tissue Res, 1999, 296(3): 565-573.
- 10 Hirsch MS, Lunsford LE, Trinkaus Randall V, et al. Chondrocyte survival and differentiation in situ are integrin mediated. Dev Dyn, 1997, 210(3): 249-263.
- 11 Lee YS, Chuong CM. Adhesion molecules in skeletogenesis: I. Transient expression of neural cell adhesion molecules (NCAM) in osteoblasts during endochondral and intramembranous ossification. J Bone Miner Res, 1992, 7(12): 1435-1446.
- 12 Ferrari SL, Traianedes K, Thome M, et al. A role for N-cadherin in the development of the differentiated osteoblastic phenotype. J Bone Miner Res, 2000, 15(2): 198-208.
- 13 Hughes DE, Salter DM, Dedhar S, et al. Integrin expression in human bone. J Bone Miner Res, 1993, 8(5): 527-533.

(收稿日期: 2003-06-02 本文编辑: 连智华)

关节软骨缺损修复的实验与临床

Experimental study and clinical application of the repair of articular cartilage defect

朱国华, 齐新生

ZHU Guohua, QI Xinsheng

关键词 关节软骨; 软骨缺损; 修复 **Key words** Articular cartilage; Cartilage defect; Repair

关节软骨的修复一直是骨科领域尚未完全解决的一大难题。现就关节软骨损伤后促进自身修复、组织或细胞移植修复、组织工程修复等方面对关节软骨修复方法作一综述。

1 促进关节软骨自身修复

关节软骨损伤或缺损能否自行修复,多数人认为,成熟关节软骨修复能力极为有限,其修复主要靠邻近组织,尤其是软骨下骨的化生,它是来自软骨下骨组织的肉芽组织化生为纤维软骨,然后成熟不到完善的透明软骨形态,关节软骨虽具有自行愈合的能力,但愈合能力十分有限。于是人们想借助于外界刺激来促进软骨缺损的愈合。

Gill^[1] 提倡用微骨折及外科扩创技术来治疗软骨损伤,他是通过钻孔以造成局部软骨以及软骨下骨小梁的微骨折而非

骨的破坏来诱导骨愈合反应,同时通过外科扩创术局部形成血凝块为软骨再生提供良好的生长环境,以上方法旨在从骨髓中获得多潜能的骨髓干细胞以及生长因子以促进软骨细胞的分化和软骨缺损的修复。但这些方法是否确实有效尚有争议。目前临床上钻孔术多用于局限性的关节软骨损伤,如髌骨软化症、跖趾退行性关节炎等。

Katsumi 等^[2] 的研究证实透明质酸不仅有润滑作用,还有其直接的生物化学作用。Fortier 等^[3] 研究了胰岛素生长因子-1(IGF-1)在软骨急性损伤中的基因表达,认为它能参与软骨生长的调节,但其浓度与软骨基质的生长不呈正比,而是不断波动的。Miura 等^[4] 研究了高浓度的转化生长因子- β 1(TGF- β 1)对软骨缺损修复的基因治疗,发现它能刺激骨膜移植软骨的再生,促进新生软骨与软骨缺损区的融合,提高软骨愈合的质量。为了使生长因子和其他生物活性剂能有效