

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.02.048

碱性成纤维生长因子(bFGF)对软骨生物学的影响

李思佳 许艳华[△]

(昆明医科大学口腔学院 云南 昆明 650031)

摘要: bFGF 的生物学作用极其广泛,特别在促进创伤愈合与组织修复、组织再生起着十分重要的作用,它作为重要的有丝分裂促进因子,可传递发育的信号促进软骨细胞分裂,同时也是软骨细胞形态发生和分化的诱导因子,参与软骨的生长发育和组织损伤修复过程,特别是在软骨细胞的增殖分化起到重要作用,在解决软骨工程中面临的问题以及治疗骨关节炎等研究中具有的参考意义。本文对 bFGF 对软骨的分化、增殖、凋亡等不同生物学阶段的影响作用做一个综述。

关键词: 碱性成纤维生长因子 bFGF;软骨细胞

中图分类号: R681.3, R782 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)02-380-03

Effect of bFGF on the Biological Properties of Cartilage

LI Si-jia, XU Yan-hua[△]

(Stomatology college of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan, 650031, China)

ABSTRACT: Basic fibroblast growth factor (bFGF) is an important promoting factor in mitosis. bFGF can be passed as the mesoderm and neural signal to promote the development of Ectodermal Dysplasia cell division, and cell morphogenesis and differentiation-inducing factor, growth and organizations involved in cartilage injury and repair process. Especially bFGF play an important role in proliferation and differentiation of chondrocytes which to provide reference value in solve the problem of tissue engineered cartilage and to cure osteoarthritis. This article makes a summary in effect of bFGF on the biological properties of cartilage, which is differentiation, proliferation, apoptosis.

Key words: Basic fibroblast growth factor (bFGF); Cartilage

Chinese Library Classification(CLC): R681.3, R782 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)02-380-03

前言

软骨在人和脊椎动物的胎儿和幼年时期分布广泛,随着年龄的增长,大部分逐渐被骨组织代替。软骨成年后软骨存在于骨的关节面、肋软骨、气管、耳廓、椎间盘等处。对骨骼发育起重要作用。例如,软骨发育不全,会影响长骨发育导致侏儒症。在人的颌面部发育中,对软骨结合的生长发育造成严重影响时,则可出现颌面畸形征,例如:腭裂, Crouzon 综合症,锁骨颅骨发育不全(cleidocranial dysostosis)等。由于软骨组织没有血管供应,在缺损处无法分化细胞,从而导致了关节损伤后不易修复。所以软骨的再生修复一直是人们研究热点和难点。

碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF 或 FGF-2)由 Gospodarowicz^[1]在 1974 年从牛神经组化中纯化到。bFGF 的生物学作用极其广泛,特别在促进创伤愈合与组织修复、组织再生起着十分重要的作用,在软骨的研究有着重要意义。本文就 bFGF 对软骨的分化、增殖、凋亡等生物学过程的影响作一综述。

1 bFGF 对软骨细胞的作用机制

作者简介:李思佳(1987-),女,硕士研究生,主要研究方向:口腔正畸,软骨,磁力,电话:13888592504, E-mail:492044944@qq.com

[△]通讯作者:许艳华, E-mail:1186875537@qq.com

(收稿日期:2013-03-03 接受日期:2013-03-26)

软骨细胞合成 bFGF 后旁分泌或自分泌到细胞外,通过 HSPG 低亲和力受体[即硫酸肝素蛋白多糖(Heparansulfate proteoglycans, HSPG)]结合到高亲和力受体[即成纤维细胞生长因子跨膜受体(fibroblast growth factor receptors, FGFRs)]上,导致 FGFRs 的酪氨酸激酶活性增强,并使自身的酪氨酸残基发生磷酸化,分别激活以下不同的信号转导途径后对软骨分化、增殖、凋亡等过程产生作用^[2,3]。

1.1 促进软骨分化、增殖相关途径

(1) 蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 途径^[4]: bFGF 通过 PKC 途径不断地与磷脂酶 C (phospholipase C, PLC) 分子上的 SH2 结构域结合来快速吸纳该分子,激活的 PLC 可水解其底物 4,5 - 二磷酸磷脂酰肌醇(PIP2) 形成二酰基甘油(DAG) 和 3-磷酸肌醇(IP3)两个二级信号,从而影响钙离子的内流。

(2) 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号传递途径: MAPK 途径控制着细胞多种生理过程,如在细胞生长、发育、分裂、死亡等都起到了重要作用^[5]。bFGF 主要以此途径调控细胞分裂、增殖: bFGF 与受体结合后定位于细胞核,影响 RNA 聚合酶 I, 加强核蛋白体基因的转录,促进周期蛋白 D 的表达以加速细胞由 G0 至 G1, 增强周期蛋白 E 和周期蛋白激酶复合物的活性以加速细胞由 G1 至 S 期的转换,促进细胞的 DNA 合成,促进细胞的分裂与增殖^[6-8]。

1.2 抑制软骨凋亡相关途径

目前已经清楚 bFGF 通过其细胞表面受体激活 MAPK 上调抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bcl-xL 的水平来抑制软骨细胞凋亡^[9],

但其作用机制存在争议。一些学者认为 bFGF 与 FGFR1 的相互作用启动了 Ras 和 PKC 途径,这两个途径又协调激活了 MAPK 途径从而使 bFGF 的生物效应改变来影响软骨基质的合成^[10]。近期的研究表明 bFGF 通过激活 MAPK 和 NFκB 途径中的 Elk-1 来控制 MMP-13 的含量,从而抑制软骨基质的降解^[11]。

2 bFGF 对软骨细胞的作用

2.1 bFGF 能促进软骨分化与增殖

bFGF 能促进软骨发育增殖过程中的特征性变化。

(1) 细胞形态的改变: bFGF 能诱导前软骨细胞向软骨细胞分化: Xu ZS^[12]等试验得出: 10 μg/L 的 bFGF 促进骨髓间充质干细胞(Bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)增殖, 观察发现细胞体积增大, 近椭圆, 胞浆丰富, 核浆比例较小, 各细胞器含量丰富, 功能活跃。Kim^[13]等也得出: bFGF 能有效增强滑膜源性干细胞向软骨的分化和增殖的能力。

(2) bFGF 能引起钙离子内流: bFGF 主要通过 PKC 途径使软骨细胞内的钙池释放钙离子而促进软骨细胞的分化增殖以及胞外基质的合成^[14]。蔡俊^[15]等研究采用 10 g/LbFGF 刺激软骨细胞后, 软骨细胞内钙离子维持轻度升高的状态, 这种钙离子的升高可以明显促进软骨细胞的增殖以及细胞外基质的合成。

(3) bFGF 促进 SOX9 的表达: Sox9 是软骨细胞分化过程中的关键调控因子。胚胎发育的过程中, SOX5、SOX6 和 SOX9 联合作用可以成功诱导胚胎干细胞向软骨细胞分化, 软骨前体细胞以及软骨细胞都表达 SOX9; 体外胚胎干细胞(ES)失去 SOX9 后导致其不能分化为软骨细胞^[16]。Andrew M^[17]等的研究中发现用 bFGF(FGF-2)预处理人间充质干细胞(human mesenchymal stem cell, hMSCs), 在已经分化和还没有分化的 hMSCs 中都检测出 Sox9 蛋白的表达水平增加并且随时间呈现稳定的趋势, 导致的结果就是 hMSCs 向软骨分化的细胞增多和已分化为软骨细胞数目的增加。

2.2 bFGF 能增强软骨细胞分泌基质的功能

软骨基质的主要成分是蛋白多糖和水以及埋于基质中的纤维成分(Ⅱ型胶原蛋白为主), 所以测定软骨细胞产生的蛋白多糖, Ⅱ型胶原蛋白量对评价细胞功能有意义。

(1) 蛋白多糖是软骨的主要细胞外基质, 是关节软骨的主要成分之一, 可作为软骨细胞体外培养功能鉴定的主要指标。FGF-2 (bFGF) 还可显著增加 BMSCs 聚集体向软骨分化的 DNA 和 GAGs 含量^[18,19]。大量实验表明: bFGF 能明显促进体外培养的传代软骨细胞合成大量的氨基葡聚糖类基质: ① bFGF 可以使分泌氨基葡聚糖的软骨细胞数目增多; ② 可使每一个软骨细胞合成氨基葡聚糖的量增加; ③ bFGF 在缺氧环境中, 对 GAG 的促进作用也不会受到影响^[20,21]。

(2) Ⅱ型胶原蛋白: 原代培养的软骨细胞可合成大量的Ⅱ型胶原, 传代后软骨细胞合成Ⅱ型胶原减少, Ⅰ、Ⅲ型胶原增加, 在加入 bFGF 的人体软骨细胞中发现Ⅰ型胶原的产生减少而Ⅱ型胶原蛋白的合成增多^[22]。戴心怡^[24]等研究表明 5 ng/mL bFGF 能促进多次传代软骨细胞Ⅱ型胶原的表达, 多次传代软骨细胞在生长因子刺激下, 仍有再分化的能力。由于 FGF-2

(bFGF)能良好地保持 BMSCs 的成软骨能力, 目前软骨组织工程中 FGF-2(bFGF)多应用于 BMSCs 的大量扩增阶段, 单层培养扩增 BMSCs 时添加 FGF-2(bFGF)已成为许多实验室软骨诱导程序中的一环^[23]。

2.3 bFGF 能抑制软骨细胞凋亡

Khan IM^[20]等的试验得出: FGF-2 能特异性地刺激软骨细胞快速成熟, 而不发生凋亡。UI Brich C^[27]等发现在微重力环境中培养的软骨细胞, 24 小时后发现有 18% 发生凋亡, 但是加入 bFGF 的软骨细胞没有凋亡出现。

3 bFGF 在软骨研究中的应用

bFGF 对软骨研究方面担任了重要的角色, 特别是在软骨工程, 骨关节炎(OA)的治疗以及软骨缺损修复等领域。在软骨工程的最新研究中得出: bFGF 的补充有效下调 α-SMA 表达从而有效的防止 BMSC 缩孔, 这为改良 BMSC 工程三维软骨品质和形状的控制技术提供了线索^[28]。近期的研究表明 bFGF 主要是通过 PKC 途径来调节人类关节软骨滑液中 MMP13 的含量, 推断出 MAPK 途径和 PKC 途径相互作用机制可能是骨关节炎(OA)发病的主要病因^[29]。这为 OA 的治疗提供了一个方向。CHUA K^[30]等人在成人鼻中隔的研究表明: 10% 的人血清(HS)和 5% bFGF 能够安全地加速软骨细胞生长速率, 提供了更多的软骨细胞, 因此它对鼻中隔软骨数量的增加是安全的, 这也对高质量的自体软骨治疗软骨缺损提供了依据, 特别是在头颈部重建手术。另一个研究说明^[31]: 在活体内的一剂 0.1 mg 范围内的 FGF-2 可以刺激颞下颌关节软骨缺损的修复。

4 结论

综上所述, bFGF 通过不同的信号传导途径在软骨的分化、增殖、凋亡等多个生物学过程都起到了重要作用。在软骨相关研究中 bFGF 的应用日趋深入, 许多研究已从基础研究阶段走向了临床研究阶段, 对软骨工程走向成熟提供了坚实基础, 对于软骨缺损修复, 骨关节炎等临床难题提供了新的治疗方法。

参考文献(References)

- [1] Gospodarowicz D, Jones KL, Sato G. Purification of a growth factor for ovarian cells from bovine pituitary glands [J]. Proc Natl Acad Sci U S A., 1974, 71(6): 2295-2299
- [2] Solchaga LA, Penick K, Porter JD, et al. FGF-2 enhances the mitotic and chondrogenic potentials of human adult bone marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. J Cell Physiol., 2005, 203(2): 398-409
- [3] Malkowski A, Sobolewski K, Jaworski S, et al. FGF binding by extracellular matrix components of Wharton's jelly [J]. Acta Biochim Pol., 2007, 54(2): 57-63
- [4] Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases [J]. Cell., 2000, 103(2): 211-225
- [5] Lim H, Kim HP. Matrix metalloproteinase-13 expression in IL-1β-treated chondrocytes by activation of the p38 MAPK/c-Fos/AP-1 and JAK/STAT pathways[J]. Arch Pharm Res, 2011, 34(1): 109-117
- [6] Xu C, Rosler E, Jiang J, et al. Basic fibroblast growth factor supports undifferentiated human embryonic stem cell growth without conditioned medium[J]. Stem Cells, 2005, 23(3): 315-323

- [7] Otsuki S, Hanson SR, Miyaki S, et al. Extracellular sulfatases support cartilage homeostasis by regulating BMP and FGF signaling pathways [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(22): 10202-10207
- [8] Gomez-Camarillo MA, Almonte-Becerril M, Vasquez Tort M, et al. Chondrocyte proliferation in a new culture system[J]. *Cell Prolif*, 2009, 42(2): 207-218
- [9] Van den Berghe L, Laurell H, Huez I, et al. FGF-2 [fibroblast growth factor-2 (FGF-2)-interacting-factor], a nuclear putatively antiapoptotic factor, interacts specifically with FGF-2[J]. *Molecular Endocrinology*, 2000, 14(11): 1709-1724
- [10] Yan D, Chen D, Im HJ. Fibroblast growth factor-2 promotes catabolism via FGFR1-Ras-Raf-MEK1/2-ERK1/2 axis that coordinates with the PKC δ pathway in human articular chondrocytes [J]. *Cell Biochem*, 2012, doi: 10.1002/jcb.24160
- [11] Muddasani P, Norman JC, Ellman M, et al. ImHJ Basic fibroblast growth factor activates the MAPK and NF κ B pathways that converge on Elk-1 to control production of matrix metalloproteinase-13 by human adult articular chondrocytes[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(43): 31409-31421
- [12] Cao B, Xu ZS, Xiao DM, et al. Biocompatibility of polylactic-co-glycolic acid for culturing bFGF gene-transfected bone marrow stromal cells and application of the cell complex for repairing rabbit cartilage defect [J]. *Journal of Southern Medical University*, 2009, 29(6): 1123-1126
- [13] Kim JH, Lee MC, Seong SC, et al. Enhanced proliferation and chondrogenic differentiation of human synovium-derived stem cells expanded with basic fibroblast growth factor[J]. *Tissue Eng Part A*, 2011, 17(7-8): 991-1002
- [14] 范卫民, 蔡俊. 周期性压力对组织工程软骨的影响及其作用机制[J]. *中华实验外科杂志*, 2006, 23(8): 3
- [15] 蔡俊, 戴心怡, 郭开今, 等. 细胞内钙离子在碱性成纤维细胞生长因子调节软骨细胞增殖分化过程中的作用[J]. *中华实验外科杂志*, 2008, 25(10): 1
- [16] Hargus G, Kist R, Kramer J, et al. Loss of Sox9 function results in defective chondrocyte differentiation of mouse embryonic stem cells in vitro[J]. *Int J Dev Biol*, 2008, 52(4): 323-332
- [17] Handorf AM, Li WJ. Fibroblast growth factor-2 primes human mesenchymal stem cells for enhanced chondrogenesis [J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22887
- [18] Stewart AA, Byron CR, Ponderis H, et al. Effect of fibroblast growth factor-2 on equine mesenchymal stem cell monolayer expansion and chondrogenesis[J]. *Am J Vet Res*, 2007, 68(9): 941-945
- [19] Park KH, Na K. Effect of growth factors on chondrogenic differentiation of rabbit mesenchymal cells embedded in injectable hydrogels[J]. *J Biosci Bioeng*, 2008, 106(1): 74-79
- [20] Gunja NJ, Athanasios KA. Additive and synergistic effects of bFGF and hypoxia on leporine meniscus cell-seeded PLLA scaffolds[J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2010, 4(2): 115-122
- [21] Fong CY, Subramanian A, Gauthaman K, et al. Human Umbilical Cord Wharton's Jelly Stem Cells Undergo Enhanced Chondrogenic Differentiation when Grown on Nanofibrous Scaffolds and in a Sequential Two-stage Culture Medium Environment[J]. *Stem Cell Rev*, 2012, 8(1): 195-209
- [22] Wang L, Detamore MS. Effects of growth factors and glucosamine on porcine mandibular condylar cartilage cells and hyaline cartilage cells for tissue engineering applications[J]. *Arch Oral Biol*, 2009, 54(1): 1-5
- [23] 付胜良, 俞子. 兔骨髓间充质干细胞体外培养定向诱导分化为软骨细胞[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011
- [24] 戴心怡, 苏新, 仇镇宁, 等. bFGF 和 TGF- β 13. 对体外培养兔软骨细胞增殖的影响[J]. *Acta Univ Med Nanjing*, 2006, 26: 322-325
- [25] Solchaga LA, Penick K, Goldberg VM, et al. Fibroblast growth factor-2 enhances proliferation and delays loss of chondrogenic potential in human adult bone-marrow-derived mesenchymal stem cells[J]. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16(3): 1009-1019
- [26] Khan IM, Evans SL, Young RD, et al. Fibroblast growth factor 2 and transforming growth factor β 1 induce precocious maturation of articular cartilage[J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(11): 3417-327
- [27] Ulbrich C, Westphal K, Pietsch J, et al. Characterization of human chondrocytes exposed to simulated microgravity [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2010, 25(4-5): 551-560
- [28] Li Q, Liu T, Zhang L, et al. The role of bFGF in down-regulating α -SMA expression of chondrogenically induced BMSCs and preventing the shrinkage of BMSC engineered cartilage[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(21): 4773-4781
- [29] Im HJ, Muddasani P, Natarajan V, et al. Basic fibroblast growth factor stimulates matrix metalloproteinase-13 via the molecular cross-talk between the mitogen-activated protein kinases and protein kinase C δ pathways in human adult articular chondrocytes [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(15): 11110-11121
- [30] Chua K, Aminuddin B, Fuzina N, et al. Basic fibroblast growth factor with human serum supplementation: enhancement of human chondrocyte proliferation and promotion of cartilage regeneration[J]. *Singapore Med J*, 2007, 48(4): 324-332
- [31] Takafuji H, Suzuki T, Okubo Y, et al. Regeneration of articular cartilage defects in the temporomandibular joint of rabbits by fibroblast growth factor-2: a pilot study[J]. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2007, 36(10): 934-937

(上接第 379 页)

- [18] Sorace AG, Saini R, Mahoney M, et al. Molecular ultrasound imaging using a targeted contrast agent for assessing early tumor response to antiangiogenic therapy [J]. *J Ultrasound Med*, 2012, 31(10): 1543-1550
- [19] Gee MS, Upadhyay R, Bergquist H, et al. Human breast cancer tumor models: molecular imaging of drug susceptibility and dosing during HER2/neu-targeted therapy[J]. *Radiology*, 2008, 248(3): 925-935
- [20] Waerzeggers Y, Monfared P, Viel T, et al. Methods to monitor gene therapy with molecular imaging[J]. *Methods*, 2009, 48(2): 146-160