

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2012.37.029 [http://www.crter.org/crter-2012-qikanquanwen.html]

杨再清, 孟增东. 骨形态发生蛋白9诱导成骨分化及其在骨科中的应用[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(37): 6987-6992.

骨形态发生蛋白9诱导成骨分化及其在骨科中的应用**

杨再清^{1,2}, 孟增东^{1,2}

文章亮点: 文章概述了骨形态发生蛋白9的成骨作用及其影响因素、成软骨作用及其在骨科相关疾病中的应用进展。

关键词: 骨形态发生蛋白9; 成骨分化; 骨缺损; 脊柱融合; 肿瘤

摘要

背景: 骨形态发生蛋白9是一种强有力的诱导成骨分化的骨形态蛋白,但对它的研究却偏少。

目的: 对近年来国内外有关骨形态发生蛋白9诱导成骨分化的研究现状以及其在骨科相关疾病治疗中的应用研究进行综述。

方法: 应用计算机检索CNKI和Pubmed数据库中2001-01/2011-06关于骨形态发生蛋白9的文章,以“骨形态蛋白-9;成骨分化;骨缺损;脊柱融合;肿瘤”或“bone morphogenetic protein 9, osteogenic differentiation, bone fracture, spinal fusions, tumor”为关键词进行检索。选择近5年内关于骨形态发生蛋白9的近期发表或发表在权威杂志的文章。初检得到91篇文献,根据纳入标准得到34篇文献并进行系统回顾与综述。

结果与结论: 迄今为止,已发现多种生长因子能够促进骨形成,其中,骨形成蛋白是骨组织形成过程中最关键的调节因子。骨形态发生蛋白9属于骨形态发生蛋白家族,不仅能强有力的诱导间充质细胞、前成骨细胞和肌肉细胞等成骨分化,而且在软骨形成中也具有重要作用。其诱导骨形成机制不完全同于传统的骨形态发生蛋白。动物实验证明其还能促进骨折愈合、诱导脊柱融合,调控肿瘤的迁徙。因此,骨形态发生蛋白9在骨科领域中具有潜在的应用前景。

Bone morphogenetic protein 9 induces osteogenic differentiation and its application in orthopedics

Yang Zai-qing^{1,2}, Meng Zeng-dong^{1,2}

Abstract

BACKGROUND: Bone morphogenetic proteins can enhance osteogenic differentiation and bone formation efficiently. Bone morphogenetic protein 9 is one of the most effective Bone morphogenetic proteins to induce osteogenic differentiation. However, it is one of the Bone morphogenetic proteins least studied.

OBJECTIVE: To review the research about bone morphogenetic protein 9 inducing osteogenic differentiation and its application in the treatment of many bony and musculoskeletal disorders at home and abroad in recent years.

METHODS: Bone morphogenetic protein 9 relevant articles from CNKI and PubMed databases from 2001-01 to 2011-06 were retrieved by computer. The articles published during the recent 5 years in the authorized journals related to this subject were collected. The key words were “bone morphogenetic protein 9, osteogenic differentiation, bone fracture, spinal fusions, tumor” in Chinese and English, respectively. There were 91 articles after the initial survey. A total of 34 articles related to BMP were included according to inclusion criteria for review.

RESULTS AND CONCLUSION: So far, several studies have shown that many growth factors can promote bone formation, and bone morphogenetic proteins are probably the most effective regulatory factor in the process of bone tissue formation. Bone morphogenetic protein 9, one of the bone morphogenetic protein family, not only can powerfully induce the osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells and muscle cell preosteoblasts, but also play an important role in chondrogenesis, and its mechanism of inducing bone formation does not totally depend on the traditional classical BMP signal pathway. Animal experiments proved that bone morphogenetic proteins can also promote fracture healing, induce spinal fusions and regulate the behavior of tumor. Therefore, bone morphogenetic protein 9 has a bright future in the treatment of skeletal system diseases.

Yang ZQ, Meng ZD. Bone morphogenetic protein 9 induces osteogenic differentiation and its application in orthopedics. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(37): 6987-6992.

¹昆明医学院附属昆华医院骨科,云南省昆明市650032;²云南省第一人民医院骨科,云南省昆明市650032

杨再清★,男,1986年生,云南省龙陵县人,汉族,昆明医学院在读硕士,主要从事骨科基础与临床方面研究。
yzq2010229@126.com

通讯作者:孟增东,副主任医师,硕士生导师,云南省第一人民医院骨科,云南省昆明市650032
menggu7119@vip.sina.com

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:2095-4344(2012)37-06987-06

收稿日期:2011-12-05
修回日期:2012-01-30
(20111005015/D·T)

¹Department of Orthopedics, Kunhua Hospital, Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China; ²Department of Orthopedics, Yunnan First People's Hospital, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Yang Zai-qing★, Studying for master's degree, Department of Orthopedics, Kunhua Hospital, Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China; Department of Orthopedics, Yunnan First People's Hospital, Kunming 650032, Yunnan Province, China yzq2010229@126.com

Corresponding author: Meng Zeng-dong, Associate chief physician, Master's supervisor, Department of Orthopedics, Kunhua Hospital, Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China; Department of Orthopedics, Yunnan First People's Hospital, Kunming 650032, Yunnan Province, China menggu7119@vip.sina.com

Supported by: The Application Basic Research Foundation of Yunnan Province, No. 2010CD195*

Received: 2011-12-05
Accepted: 2012-01-30

0 引言

长期以来,由于各种原因引起的骨缺损、退行性变、肿瘤等始终困扰着人类的健康,如何更有效地治疗骨骼系统相关疾病是医学的努力方向。而如何促进骨形成是解决问题的难点和热点。迄今为止,已发现多种生长因子能够促进骨形成,如胰岛素样生长因子、成纤维细胞生长因子、转化生长因子 β 、血小板衍生生长因子、骨形态发生蛋白等。其中,骨形态发生蛋白是唯一能单独诱导间充质细胞向骨组织方向分化的生长因子,是骨组织形成过程中最关键的调节因子。骨形态发生蛋白 9 属于骨形态发生蛋白家族,被认为是具有最强诱导骨形成作用的骨形态蛋白之一,大量存在于肝脏^[1],以内分泌方式释放,发挥着多种生理功能。如:作用于胰腺组织和肌肉调节糖脂代谢,促进神经元的分化,调节造血细胞功能^[2]。而且,骨形态发生蛋白的受体阻滞剂骨形态发生蛋白 3 对它无明显影响^[3],骨形态发生蛋白 9 并不完全通过经典骨形态发生蛋白信号传导途径,有望成为一种特别的骨诱导因子。本文就骨形态发生蛋白 9 的诱导成骨效应及其在骨科中的应用和前景做一综述。

1 资料和方法

1.1 资料来源 由第一作者应用计算机检索 CNKI 数据库(<http://dlib.cnki.net/kns50/>)和 Pubmed 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>) 相关文献。检索时间范围:2001-01/2011-06。中文检索词为“骨形态蛋白 9,成骨分化,骨缺损,脊柱融合,肿瘤”;英文检索词为“bone morphogenetic protein 9, osteogenic differentiation, bone fracture, spinal fusions, tumor”。共检索到文献 91 篇。

1.2 入选标准

纳入标准:①骨形态发生蛋白 9 及其在骨科领域的应用研究。②具有原创性,论点论据可靠的文章。③对同一领域的文献选择近

期发表或权威杂志的文献。

排除标准:①骨形态发生蛋白家族除骨形态发生蛋白 9 以外的骨形态发生蛋白。②重复性、陈旧性文章。③Meta 分析类文章。

1.3 质量评估 初检得到 91 篇文献,其中英文文献 66 篇,中文文献 25 篇。阅读标题和摘要进行初筛,排除重复性和与研究目的不相符的文章;查阅全文,判断与纳入标准一致的文章,最后选择 34 篇符合标准的文献。

2 结果

2.1 纳入文献基本情况 文献[1-3]总结了近年来骨形成蛋白在骨科领域的研究进展;文献[4-20]概述了骨形态发生蛋白 9、成骨及软骨作用影响因素;文献[22-34]阐述了骨形态发生蛋白 9 在骨科相关疾病中的运用。

2.2 骨形态发生蛋白 9 概述 骨形态发生蛋白 9 也被称作生长分化因子 2,最初是从胚胎小鼠肝 cDNA 克隆得到,是转化生长因子 β 超家族中的成员之一。人的骨形态发生蛋白 9 位于染色体 10 q11.22,它的前体蛋白包含 428 个氨基酸,鼠骨形态发生蛋白 9 在 16 号染色体上,其成熟肽段有 110 个氨基酸,人和鼠的骨形态发生蛋白 9 有 80%的同源性^[4]。

2.3 骨形态发生蛋白 9 的成骨作用及其影响因素 骨形态发生蛋白 9 有促进成骨细胞分化和诱导体内外成骨的能力,同时能使成骨细胞的前体细胞定向分化为成骨细胞。而且,骨形态发生蛋白 9 不仅对骨组织来源的细胞株如成骨细胞的前体细胞有刺激分化的作用,而且还可诱导非骨组织来源的细胞株,如 C₂、C₁₂ 成肌细胞分化为成骨细胞。Cheng 等^[5]分析 14 种重组腺病毒介导的骨形态发生蛋白的成骨作用,结果发现骨形态发生蛋白 9 能显著诱导多潜能细胞 C3H10T_{1/2} 及成肌细胞 C₂、C₁₂ 碱性磷酸酶活性、骨钙素表达升高和胞内矿化结节的形成。Luu 等^[6]的研究也证实骨形态发生蛋白 9 成骨活性强于传统的骨形态发生蛋白 2 和骨形态发生蛋白 7。国内有学者以小鼠干细胞为载体,转染不同骨形态发生蛋白后注射入小鼠大腿中,得到相

似的实验结果^[7]。Bergeron 等^[8]比较骨形态发生蛋白 2、骨形态发生蛋白 9 和 p 骨形态发生蛋白 9 对 MC3T3-E1 细胞在无血清培养基中的分化的影响。结果发现 1 d 后, 随着骨形态发生蛋白 9 和猪骨形态发生蛋白 9 剂量增加, 成骨分化早期标记物碱性磷酸酶活性增强。实时定量聚合酶链反应分析显示 6 d 内骨形态发生蛋白 2, 骨形态发生蛋白 9 和猪骨形态发生蛋白 9 全部激活了 Runx2、Osterix、I 型胶原的 $\alpha 1$ 链和骨钙素基因的转录。茜素红 S 量化也表明, 猪骨形态发生蛋白 9 和猪骨形态发生蛋白 9 分别在 12, 18 d 内使得 Ca^{2+} 沉积于细胞外基质。这些研究结果充分表明骨形态发生蛋白 9 是一种强有力的诱导骨形成的生长因子。

同样, 人骨形态发生蛋白 9 和重组人骨形态发生蛋白 9 亦具有强大的成骨作用。Aslan 等^[9]通过电通透作用技术对人骨髓间充质干细胞进行基因转染。在培养基中, 人骨形态发生蛋白 2 和人骨形态发生蛋白 9 基因转染的人骨髓间充质干细胞与对照组增强型荧光绿色蛋白基因转染的人骨髓间充质干细胞相比, 钙沉积明显增加。将人骨形态发生蛋白 2 和人骨形态发生蛋白 9 基因转染的人骨髓间充质干细胞植入非肥胖糖尿病/严重联合免疫缺陷鼠的不同部位, 4 周后有骨组织形成。这表明, 采用经人骨形态发生蛋白 2 和人骨形态发生蛋白 9 基因转染可显著提高人骨髓间充质干细胞的体内成骨。并且应用人重组骨形态发生蛋白 2 衍生肽构成的运载系统也能诱导 MC3T3-E1 的分化^[10]。江标等^[11]采用阳离子脂质体介导人骨形态发生蛋白 9 基因转染兔骨髓间充质干细胞, 发现骨形态发生蛋白 9 能刺激骨髓间充质干细胞的碱性磷酸酶活性增强, 诱导钙结节形成; 骨形态发生蛋白 9 基因修饰兔骨髓间充质干细胞与聚乳酸-羟基乙酸支架材料的复合物, 能够在兔肌袋内有效的促进异位成骨和血管化的形成。由此发现, 骨形态发生蛋白 9 在有免疫能力的动物体内仍能显著诱导骨形成, 是一种有潜力的组织工程种子细胞。

随着对骨形态发生蛋白成骨的作用及机制研究的深入, 大量实验发现, 无论在体内还是体外, 骨形态发生蛋白 9 诱导成骨分化过程受多种因素的影响, 其中有正向调控作用, 也有负向抑制作用。

Bergeron 等^[8]研究发现骨形态发生蛋白 9 和猪骨形态发生蛋白 9 激活 Smad 通路, 但与骨形态发生蛋白 2 相反, 骨形态发生蛋白 9 和猪骨形态发生蛋白 9 诱导的 Smad 蛋白磷酸化不受骨形态发生蛋白 2 胞

外拮抗剂 NOGGIN 阻止。通过 PI3K/Akt 信号途径藕联, 胰岛素样生长因子 2 可以提高骨形态发生蛋白 9 的受体 Smad 蛋白的活性和 Smad1/5/8 核内转移, 增加碱性磷酸酶和其他骨形成标记物的表达^[12]。而 Hey1 碱性螺旋-环-螺旋蛋白可能是 1 个骨形态发生蛋白 9 诱导性 Smad 信号通路的直接靶, 通过与 Runx2 相互作用, 在调节骨形态发生蛋白 9 诱导骨髓间充质干细胞分化为成骨细胞中具有重要作用^[13]。Zhang 等^[14]用骨形态发生蛋白 9 和 RA 刺激成间充质前体细胞系, 再将重组腺病毒介导的骨形态发生蛋白 9, RAR- α 和 RXR- α 植入成间充质前体细胞, 结果发现, 9CRA 和 ATRA 激活 BMPR Smad 蛋白介导的转录活性, 有效地诱导成骨细胞早期标志物碱性磷酸酶和晚期成骨标志物(骨桥素、骨钙素)的表达。离体实验中, 9CRA 和 ATRA 协同增强骨形态发生蛋白 9 诱导成骨分化和矿化。实验证明, 骨形态发生蛋白 9 和 RXR- α 共同表达显著增加骨小梁和骨样基质的形成。并推断, RA 信号可能与骨形态发生蛋白 9 协同促进成间充质前体细胞成骨分化。经典 Wnt 信号则可能通过与 β -catenin 和 Runx2 接触, 在骨形态发生蛋白 9 诱导骨髓间充质干细胞成骨分化中具有重要作用^[15]。由此可见, 多种因素通过不同信号途径促进骨形态发生蛋白 9 诱导基质细胞成骨。但也有学者发现多种因素可以抑制其成骨作用。Wu 等^[15]将显性负向的 II 型转化生长因子 β 受体导入 C3H10T_{1/2} 干细胞, 然后进行体内外实验, 发现 3 种 DN II 型转化生长因子 β 受体, DN-BMPRII、DN-ActRII 和 DN-ActRIIB 减少骨形态发生蛋白 9 诱导的碱性磷酸酶活性, 导致骨形态发生蛋白 9 诱导的控制性 Smad 蛋白黏结剂受体活性降低, 降低骨形态发生蛋白 9 诱导的 Smad6 和 Smad7 的表达, 并且降低骨形态发生蛋白 9 诱导的体内矿化和体外异位成骨, 最终导致骨细胞数量及未成熟骨细胞减少。利用核糖核酸干扰技术(RNAi)发现, 由骨形态发生蛋白 9 诱导的荧光素酶受体活性和碱性磷酸酶活性都受 BMPRII 和 ActRII 的抑制。Tang 等^[16]发现, 骨髓间充质干细胞和胚胎成纤维细胞敲除 β -连环蛋白可以抑制骨形态发生蛋白 9 诱导成骨。此外, Wnt 信号拮抗剂 FrzB 过度表达也可以抑制骨形态发生蛋白 9 诱导的体外矿化和体内异位成骨, 导致未成熟骨细胞和软骨基质形成。并且 FrzB 较 Dkk1 更能够有效地抑制骨形态发生蛋白 9 诱导的碱性磷酸酶活性。另有实验发现胰岛素样生长因子拮抗剂 IGFBP3 和 IGFBP4 对胰岛素

样生长因子 2 调控骨形态发生蛋白 9 诱导成骨的碱性磷酸酶活性和基质矿化有抑制作用^[12]。PI3 激酶(PI3K) 的抑制剂 LY294002 能对抗胰岛素样生长因子 2 对骨形态发生蛋白 9 介导的成骨细胞信号的增强作用, 也可以直接抑制骨形态发生蛋白 9 活性。Luo 等^[17]通过体内实验发现, 在 7 种突变型 BMP1 型受体中, ALK1 和 ALK2 突变型受体影响骨形态发生蛋白 9 诱导骨髓间充质干细胞的体内成骨。siALK1 和 siALK2 可以抑制骨形态发生蛋白 9 诱导的 BMPR-Smad 蛋白活性和骨髓间充质干细胞体内体外的成骨分化。

总之, 骨形态发生蛋白 9 诱导骨形成是个复杂的过程, 其能够激活经典的骨形态发生蛋白/Smad 蛋白信号传导通路, 同时能够通过增加 p38MAPK、ERK1/2 和 JNK 的磷酸化水平激活 MAPKs 通路^[18], 也可以通过诱导 Notch 通路配受体表达上调使 Hey1 升高, 后者协同成骨^[13]。不同信号途径的活化依赖于各种调控因子在细胞中的特异性表达, 并受多种因素的影响。

2.3 骨形态发生蛋白 9 成软骨作用 骨形态发生蛋白 9 不仅能强有力的诱导间充质细胞、前成骨细胞和肌肉细胞等成骨分化, 而且在软骨形成中也具有重要作用。Majumdar 等^[19]在无血清培养基中培养骨形态发生蛋白 2 和骨形态发生蛋白 9, 发现软骨细胞分化标记物聚集蛋白聚糖和软骨寡聚基质蛋白增加, 这说明两者能诱导软骨形成。类似于生长分化因子 5 突变体, 骨形态发生蛋白 9 对 NOGGIN 不敏感, 异位骨形态发生蛋白 9 表达可能绕过内源性 NOGGIN 介导的反馈抑制导致体内软骨大量诱导^[20]。胰岛素样生长因子 2 能增强骨形态发生蛋白 9 诱导软骨内成骨, 同时促进软组织体外培养的软骨细胞区肥厚扩张^[12]。RA 和骨形态发生蛋白 9 协同作用促进生长板上软骨细胞增生区扩大^[14]。Varady 等^[21]在无胸腺裸鼠和 SD 大鼠大腿肌肉注射 Ad-BMP-9, 然后分别在第 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 和 100 天后用光镜, 电镜和电脑断层进行分析。所有的动物表现出 3 个星期内腺病毒介导骨形态发生蛋白 9 注射点软骨内骨形成。实验组 SD 大鼠第 1 周内表现出大量的、急性炎性浸润, 第 2 周分化为小型或肥大软骨, 第 3 周, 软骨基质矿化, 形成网状原始骨, 3 个月转换为板层骨。而在对照组 Ad-beta-Gal 注射的裸鼠和 SD 大鼠均未见软骨及骨形成。

可见, 骨形态发生蛋白 9 是软骨形成的一种有效

诱导因子, 但其诱导软骨形成的机制尚不清楚。

2.4 骨形态发生蛋白 9 在骨科相关疾病中的运用 大量动物实验及临床资料证明骨形态发生蛋白 9 在骨科临床上有很大的应用价值, 可用在治疗骨缺损、骨折的修复和脊柱融合等方面^[22-23]。鉴于骨形态发生蛋白 9 强大的骨诱导能力, 其在骨科疾病中的运用研究也逐步深入。

2.4.1 骨折愈合 Kimelman-Bleich 等^[24]以 C3H/HeN 小鼠建造桡骨骨折模型, 骨折端融入胶原海绵, 然后以骨形态发生蛋白 9 质粒电穿孔为实验组, 荧光素酶质粒电穿孔为对照组。经体内生物发光成像表明, 基因的表达局限在缺损部位。微型 CT 及组织学分析表明小鼠的桡骨骨折区域经电穿孔骨形态发生蛋白 9 质粒的骨缺损形成桥式联结, 而对照组没有。此项研究表明, 骨缺损可以通过成骨基因与肝前体细胞集落经电穿孔法实现再生。Alden 等^[25]用腺病毒介导骨形态发生蛋白 2 和腺病毒介导骨形态发生蛋白 9 治疗下颌骨缺损, 对照组为腺病毒载体(Ad-β-半乳糖苷酶), 结果发现治疗组显著骨性愈合, 且成骨仅限于缺损区域, 不侵入周围软组织。国内学者用骨形态发生蛋白 9 基因修饰羊骨髓间充质干细胞, 证实其可促进其成骨分化能力, 增强碱性磷酸酶活性表达; 转染了骨形态发生蛋白 9 的骨髓间充质干细胞在可吸收明胶海绵上生长良好, 能够有效的促进羊胫骨骨缺损的修复^[26]。

2.4.2 脊柱融合 Dumont 等^[27]在裸鼠的腰部脊柱旁经皮肤注入腺病毒介导骨形态发生蛋白 9 转染的人骨髓间充质干细胞细胞液, 注射后 8 周, 进行腰骶部脊椎断层扫描和组织学检查。结果发现在实验组注射部位有大量异位骨, 使脊柱融合, 并且无神经根受压或局部或全身毒性反应。对照组无成骨细胞生成。将腺病毒表达的骨形态发生蛋白 9 注射到裸鼠背阔肌, 每周进行肌肉切片活检, 用转录聚合酶链反应和免疫组化测量肌肉成骨分化情况, 结果发现 3 周后肌肉骨骼化^[28]。Helm 等^[29]在裸鼠腰脊椎旁肌肉组织注射 7.5×10^8 pfu 腺病毒载体骨形态发生蛋白 9, 饲养 16 周。电脑断层扫描的研究和组织学分析表明, 在注射部位大量骨诱导, 明显引起脊柱关节坚固融合, 没有假关节, 神经根压迫, 或全身不良反应。

2.4.3 转移性骨肿瘤 近年的研究表明, 骨形态发生蛋白 9 在许多恶性肿瘤细胞中有表达^[30-31], 骨形态发生蛋白 9 能够调节恶性肿瘤的生物学行为。Ye 等^[32]研究发现, 骨形态发生蛋白 9 通过骨形态发生蛋白/SMAD

通路抑制前列腺癌 PC-3 细胞生长、侵袭及迁移, 并且通过 Smad 蛋白途径上调前列腺凋亡反应蛋白 4, 促进前列腺癌 PC-3 细胞凋亡。推断骨形态发生蛋白 9 很可能是前列腺癌的抑癌作用靶点, 促进骨形态发生蛋白 9 表达能够有效抑制前列腺癌的生长、侵袭及迁移能力。骨形态发生蛋白 9 还可以通过经典骨形态发生蛋白/SMAD 通路上调分化抑制因子 ID1 的表达, 促进卵巢癌细胞增殖^[33]。国内学者研究提示骨形态发生蛋白 9 可通过阻滞细胞周期进程和诱导细胞凋亡来抑制乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的增殖, 侵袭和迁移。骨形态发生蛋白 9 可能是乳腺癌转移过程中相关基因之一, 骨形态发生蛋白 9 可以作为抑制乳腺癌转移的一个潜在靶基因^[34]。但目前还没有关于骨形态发生蛋白 9 与肿瘤关系的大样本研究报道, 其与肿瘤之间的关系及其作用机制仍有待于进一步研究。

3 总结

骨形态发生蛋白 9 作为转化生长因子 β 超家族中的成员之一, 能强有力的诱导骨及软骨形成, 在有免疫力的动物体内也能显著诱导骨形成, 并且骨形态发生蛋白的受体阻滞剂骨形态发生蛋白 3 对其无明显影响, 其诱导骨形成机制不完全同于传统的骨形态发生蛋白。动物实验证明其能促进骨折愈合、诱导脊柱融合、调控癌细胞迁徙等。因此, 骨形态发生蛋白 9 在骨科领域中具有潜在的应用前景。与此同时, 应更进一步的研究骨形态发生蛋白 9 诱导骨形成的信号转导机制和其在骨损伤修复、肿瘤等方面的作用, 从而为以后的临床应用提供科学的依据。

4 参考文献

- Muñoz-Sanjuán I, Brivanlou AH. Neural induction, the default model and embryonic stem cells. *Nat Rev Neurosci.* 2002; 3(4):271-280.
- 张凌, 杨刚毅. 骨形态发生蛋白-9 的临床研究进展[J]. 医学分子生物学杂志, 2004, 1(2): 119-121.
- Kang Q, Sun MH, Cheng H, et al. Characterization of the distinct orthotopic bone-forming activity of 14 BMPs using recombinant adenovirus-mediated gene delivery. *Gene Ther.* 2004; 11(17): 1312-1320.
- Song JJ, Celeste AJ, Kong FM, et al. Bone morphogenetic protein-9 binds to liver cells and stimulates proliferation. *Endocrinology.* 1995; 136(10): 4293-4297.
- Cheng H, Jiang W, Phillips FM, et al. Osteogenic activity of the fourteen types of human bone morphogenetic proteins (BMPs). *J Bone Joint Surg Am.* 2003; 85-A(8): 1544-1552.
- Luu HH, Song WX, Luo X, et al. Distinct roles of bone morphogenetic proteins in osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *J Orthop Res.* 2007; 25(5): 665-677.
- 康权. BMP9 介导的骨形成及其机制研究[D]. 重庆医科大学, 2009: 1-69.
- Bergeron E, Senta H, Mailloux A, et al. Murine preosteoblast differentiation induced by a peptide derived from bone morphogenetic proteins-9. *Tissue Eng Part A.* 2009; 15(11): 3341-3349.
- Aslan H, Zilberman Y, Arbeli V, et al. Nucleofection-based ex vivo nonviral gene delivery to human stem cells as a platform for tissue regeneration. *Tissue Eng.* 2006; 12(4): 877-889.
- Bergeron E, Marquis ME, Chretien I, et al. Differentiation of preosteoblasts using a delivery system with BMPs and bioactive glass microspheres. *J Mater Sci Mater Med.* 2007; 18(2): 255-263.
- 江标, 李明, 曹豫江. 人骨形成蛋白 9 基因修饰的兔骨髓间充质干细胞异位成骨实验研究[J]. 四川大学学报(医学版), 2008; (05): 723-727.
- Chen L, Jiang W, Huang J, et al. Insulin-like growth factor 2 (IGF-2) potentiates BMP-9-induced osteogenic differentiation and bone formation. *J Bone Miner Res.* 2010; 25(11): 2447-2459.
- Sharff KA, Song WX, Luo X, et al. Hey1 basic helix-loop-helix protein plays an important role in mediating BMP9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells. *J Biol Chem.* 2009; 284(1): 649-659.
- Zhang W, Deng ZL, Chen L, et al. Retinoic acids potentiate BMP9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells. *PLoS One.* 2010; 5(7): e11917.
- Wu N, Zhao Y, Yin Y, et al. Identification and analysis of type II TGF- β receptors in BMP-9-induced osteogenic differentiation of C3H10T1/2 mesenchymal stem cells. *Acta Biochim Biophys Sin(Shanghai).* 2010; 42(10): 699-708.
- Tang N, Song WX, Luo J, et al. BMP-9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal progenitors requires functional canonical Wnt/ β -catenin signalling. *J Cell Mol Med.* 2009; 13(8B): 2448-2464.
- Luo J, Tang M, Huang J, et al. TGF β /BMP type I receptors ALK1 and ALK2 are essential for BMP9-induced osteogenic signaling in mesenchymal stem cells. *J Biol Chem.* 2010; 285(38): 29588-29598.
- 赵迎泽, 冯涛. BMP9 通过 MAPKs 通路调控间充质干细胞成骨分化及其机制的初步研究[D]. 重庆医科大学, 2010: 1-109.
- Majumdar MK, Wang E, Morris EA. BMP-2 and BMP-9 promotes chondrogenic differentiation of human multipotential mesenchymal cells and overcomes the inhibitory effect of IL-1. *J Cell Physiol.* 2001; 189(3): 275-284.
- Seemann P, Brehm A, König J, et al. Mutations in GDF5 reveal a key residue mediating BMP inhibition by NOGGIN. *PLoS Genet.* 2009; 5(11): e1000747.
- Varady P, Li JZ, Cunningham M, et al. Morphologic analysis of BMP-9 gene therapy-induced osteogenesis. *Hum Gene Ther.* 2001; 12(6): 697-710.
- Vaccaro AR, Whang PG, Patel T, et al. The safety and efficacy of OP-1 (rhBMP-7) as a replacement for iliac crest autograft for posterolateral lumbar arthrodesis: minimum 4-year follow-up of a pilot study. *Spine J.* 2008; 8(3): 457-465.
- Desmyter S, Goubau Y, Benahmed N, et al. The role of bone morphogenetic protein-7 (Osteogenic Protein-1) in the treatment of tibial fracture non-unions. An overview of the use in Belgium. *Acta Orthop Belg.* 2008; 74(4): 534-537.

- [24] Kimelman-Bleich N, Pelled G, Zilberman Y, et al. Targeted Gene-and-host Progenitor Cell Therapy for Nonunion Bone Fracture Repair. *Mol Ther.* 2011;19(1):53-59.
- [25] Alden TD, Beres EJ, Laurent JS, et al. The use of bone morphogenetic protein gene therapy in craniofacial bone repair. *J Craniofac Surg.* 2000;11(1):24-30.
- [26] BMP-9基因转染羊骨髓间充质干细胞的实验研究及其修复同种异体羊大段骨缺损的初步[D]. 重庆医科大学, 2010:1-47.
- [27] Dumont RJ, Dayoub H, Li JZ, et al. Ex vivo bone morphogenetic protein-9 gene therapy using human mesenchymal stem cells induces spinal fusion in rodents. *Neurosurgery.* 2002;51(5):1239-1244.
- [28] Abdelaal MM, Tholpady SS, Kessler JD, et al. BMP-9-transduced prefabricated muscular flaps for the treatment of bony defects. *J Craniofac Surg.* 2004;15(5):736-741.
- [29] Helm GA, Alden TD, Beres EJ, et al. Use of bone morphogenetic protein-9 gene therapy to induce spinal arthrodesis in the rodent. *J Neurosurg.* 2000;92(2 Suppl):191-196.
- [30] Buijs JT, Petersen M, van der Horst G, et al. Bone morphogenetic proteins and its receptors; therapeutic targets in cancer progression and bone metastasis? *Curr Pharm Des.* 2010;16(11):1291-1300.
- [31] Kang MH, Kim JS, Seo JE, et al. BMP2 accelerates the motility and invasiveness of gastric cancer cells via activation of the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt pathway. *Exp Cell Res.* 2010;316(1):24-37.
- [32] Ye L, Kynaston H, Jiang WG, et al. Bone morphogenetic protein-9 induces apoptosis in prostate cancer cells, the role of prostate apoptosis response-4. *Mol Cancer Res.* 2008;6(10):1594-1606.
- [33] Herrera B, van Dinther M, Ten Dijke P, et al. Autocrine bone morphogenetic protein-9 signals through activin receptor-like kinase-2 /Smad1 /Smad4 to promote ovarian cancer cell proliferation. *Cancer Res.* 2009;69(24):9254-9262.
- [34] 王科, 冯红蕾, 孙笑笑. 骨形态发生蛋白9抑制人乳腺癌MDA-MB-231细胞体外侵袭和迁移[J]. *基础医学与临床*, 2011, 31(4):360-365.

来自本文课题的更多信息--

基金声明: 云南省应用基础研究基金项目 (2010CD195)。

作者贡献: 第一作者调研、分析文献, 并完成本综述, 第一作者对本文负责; 通讯作者指导论文构架、审校论文并提出了重要修改意见。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

此问题的已知信息: 骨形态发生蛋白9属于骨形态发生蛋白家族, 被认为是具有最强诱导骨形成作用的骨形态蛋白之一, 大量存在于肝脏, 以内分泌方式释放, 发挥着多种生理功能。如: 作用于胰腺组织和肌肉调节糖脂代谢, 促进神经元的分化, 调节造血细胞功能。

本综述增加的新信息: 骨形态发生蛋白9诱导骨形成机制不完全同于传统的骨形态发生蛋白, 在有免疫力的动物体内也能显著诱导骨形成, 并且骨形态发生蛋白的受体阻滞剂骨形态发生蛋白3对其无明显影响。动物实验证明其还能促进骨折愈合、诱导脊柱融合, 调控肿瘤的迁徙。

临床应用的意义: 骨形态发生蛋白9是一种潜在的组织工程细胞诱导因子, 随着对骨形态发生蛋白9作用机制的逐步了解和深入, 其必将在骨科相关疾病, 尤其是骨和软骨损伤修复及脊柱融合发挥举足轻重的作用。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。