

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.15.024 [http://www.crter.org]

郭铁峰, 周明旺, 李盛华, 孙凤岐, 穆欢喜. 转化生长因子 $\beta 1$ 对软骨组织代谢影响的研究进展[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(15): 2827-2834.

## 转化生长因子 $\beta 1$ 对软骨组织代谢影响的研究进展\*\*

郭铁峰<sup>1</sup>, 周明旺<sup>2</sup>, 李盛华<sup>2</sup>, 孙凤岐<sup>1</sup>, 穆欢喜<sup>1</sup>

1 甘肃中医学院, 甘肃省兰州市 730020

2 甘肃省中医院, 甘肃省兰州市 730050

### 文章亮点:

1 此问题的已知信息: 软骨在发生损伤或退化性变后的修复是骨伤科领域的一大难题, 组织工程技术的兴起为逆转软骨的破坏及退化性变带来了新的希望, 转化生长因子 $\beta 1$ 可以介导软骨合成、抑制胶原和蛋白多糖分解, 在诱导软骨分化和维持软骨表型上起着重要作用, 实现软骨缺损的功能性修复。

2 文章增加的新信息: 重点对转化生长因子 $\beta 1$ 生物学特性、在生物工程中的应用、基因多态性、相关信号通路及 miRNA 的研究进展作一综述。

3 临床应用的意义: 如果将经过转化生长因子 $\beta 1$ 诱导形成的组织工程软骨运用于临床治疗, 能够增强软骨组织自身再生能力, 实现使软骨的损伤逆转, 将为骨性关节炎等以关节软骨破坏为主的疾病的治疗提供新的方法。

### 关键词:

组织构建; 组织构建学术探讨; 转化生长因子 $\beta 1$ ; 软骨分化; 软骨基质; 软骨细胞; 成骨细胞; 破骨细胞; 骨形态发生蛋白; 基质金属蛋白酶; 细胞因子; 综述文献; 省级基金

### 摘要

**背景:** 转化生长因子 $\beta 1$ 可以介导软骨合成、抑制胶原和蛋白多糖分解, 在诱导软骨分化和维持软骨表型上起着重要作用, 实现软骨缺损的功能性修复。

**目的:** 从生物学特性、在生物工程中的应用、基因多态性、信号通路及微小 RNA 等方面综述转化生长因子 $\beta 1$ 对软骨组织代谢影响的研究进展。

**方法:** 以“transforming growth factor- $\beta 1$ , Cartilage Differentiation, cartilage matrix”为英文检索词, 以“转化生长因子 $\beta 1$ , 软骨分化, 软骨基质”为中文检索词。经第一作者检索 2007/2012CNKI 数据库及 SPRINGERLINK 数据库有关转化生长因子 $\beta 1$ 对软骨组织代谢影响的研究进展方面的文献 130 篇, 根据纳入排除标准保留 54 篇进行总结。

**结果与结论:** 转化生长因子 $\beta 1$ 可诱导间充质细胞向软骨细胞分化, 促进软骨特异性基质的合成, 保护软骨基质不被各种蛋白酶水解破坏, 能够增强软骨组织自身再生能力, 实现使软骨的损伤逆转, 在软骨修复领域展现了巨大的潜在应用价值。

郭铁峰★, 男, 1986年生, 甘肃省兰州市人, 汉族, 甘肃中医学院在读硕士, 主要从事中西医结合诊治骨关节疾病的研究。  
923433675@qq.com

通讯作者: 周明旺, 天津中医药大学在读博士生, 主治医师, 甘肃省中医院, 甘肃省兰州市 730050  
923433675@qq.com

中图分类号: R318

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2013)15-02827-08

收稿日期: 2012-07-13

修回日期: 2012-09-26

(20120713011/W·S)

## Transforming growth factor beta 1 effects on cartilage tissue metabolism

Guo Tie-feng<sup>1</sup>, Zhou Ming-wang<sup>2</sup>, Li Sheng-hua<sup>2</sup>, Sun Feng-qi<sup>1</sup>, Mu Huan-xi<sup>1</sup>

1 Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730020, Gansu Province, China

2 Gansu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, Gansu Province, China

### Abstract

**BACKGROUND:** Transforming growth factor beta 1 can mediate cartilage synthesis and inhibit decomposition of collagen and protein polysaccharide, which has a most important effect on induction of

Guo Tie-feng★, Studying for master's degree, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730020, Gansu Province, China  
923433675@qq.com

Corresponding author: Zhou Ming-wang, Studying for doctorate, Attending physician, Gansu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, Gansu Province, China  
923433675@qq.com

Supported by: the Scientific Research Program of Gansu Educational Bureau, No. 1106B-16\*

Received: 2012-07-13  
Accepted: 2012-09-26

cartilage differentiation *in vitro* and maintenance of cartilage phenotype, realizing the functional repair of cartilage defects.

**OBJECTIVE:** Based on the biological characteristics, applications in biotechnology, gene polymorphism, signaling pathways and microRNA, to introduce research progress of transforming growth factor beta 1 influence on cartilage tissue metabolism.

**METHODS:** The first author searched CNKI and SPRINGERLINK databases (2007/2012) to retrieve articles related to transforming growth factor beta 1 influence on cartilage tissue metabolism using the key words of "transforming growth factor beta 1, cartilage differentiation, cartilage matrix" in Chinese and English, respectively. A total of 130 articles were retrieved, and finally 54 were included.

**RESULTS AND CONCLUSION:** Transforming growth factor beta 1 can induce chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells, promote cartilage-specific matrix synthesis, protect the cartilage matrix against proteolysis, enhance self-renew ability of cartilage tissues, and realize repair of cartilage injury. In the field of cartilage repair, transforming growth factor beta 1 demonstrates a great potential value.

**Key Words:** tissue construction; tissue construction academic discussion; transforming growth factor beta 1; cartilage differentiation; cartilage matrix; chondrocytes; osteoblasts; osteoclasts; bone morphogenetic protein; matrix metalloproteinase; cytokines; review literature; provincial grants-supported paper

Guo TF, Zhou MW, Li SH, Sun FQ, Mu HX. Transforming growth factor beta 1 effects on cartilage tissue metabolism. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(15): 2827-2834.

## 0 引言

软骨在发生损伤或退行性变后, 都难以进行自我修复, 现有治疗措施都不能逆转软骨的破坏及退行性变, 而造成软骨的永久性损伤, 严重影响患者的生活质量。现在的临床治疗主要以骨软骨移植或软骨细胞移植为主, 但现有的临床治疗技术仍不能达到令人满意的效果。近年来随着生物医学工程的发展, 组织工程概念被引入到软骨缺损治疗中。软骨细胞外基质中的 I 型, II 型胶原是软骨细胞分化过程中的特征性标志<sup>[1]</sup>, 研究表明转化生长因子 $\beta 1$ 可通过不同途径促进细胞外基质的合成, 促进软骨细胞增殖分化, 可通过生物工程方法, 将其运用到软骨损伤的修复中, 为治疗各种软骨损伤及骨的退行性变提供新的思路。文章重点对转化生长因子 $\beta 1$ 生物学特性、在生物工程中的应用、基因多态性、相关信号通路及 miRNA 的研究进展作一综述。

## 1 资料和方法

**1.1 资料来源** 经作者检索 2007 至 2012 年 CNKI 数据库及 SPRINGERLINK 数据库有关转化生长因子 $\beta 1$ 对软骨组织代谢影响的研究进展方面的文献。英文检索词为 "transforming growth factor- $\beta 1$ , Cartilage Differentiation, cartilage matrix", 中文检索词为 "转化生长因子 $\beta 1$ , 软骨分化, 软骨基质"。检索相关核心文献量共计 130 篇。

### 1.2 纳入与排除标准

**1.2.1 纳入标准** ①文章所述内容在生物学特性、生物工程中的应用、基因多态性、信号通路及 miRNA 等方面与转化生长因子 $\beta 1$ 对软骨组织代谢影响及目前尚存在的问题密切相关。②选择同一领域近期发表或在权威杂志上发表的文章。

**1.2.2 排除标准** 重复性研究。

**1.3 数据提取** 通过阅读文题和摘要进行初筛, 初检获得文献 130 篇, 排除研究目的与本文无关及内容重复的研究 80 篇, 最终保留 54 篇归纳总结。

1.4 质量评价 符合纳入标准的54篇文献中, 文献[1-10]探讨了转化生长因子 $\beta 1$ 结构及其生物学特性, 文献[11-54]从生物工程中的应用、基因多态性、信号通路及微小RNA等方面探讨了转化生长因子 $\beta 1$ 对软骨组织代谢影响的研究现状及存在的问题和解决方法。

## 2 结果

2.1 转化生长因子 $\beta 1$ 结构及生物学特性 转化生长因子 $\beta$ 超家族除转化生长因子 $\beta$ 外, 还包括骨形态发生蛋白, 缪勒氏管抑制质(MIS), AMH<sup>[2-3]</sup>, 生长分化因子, 抑制素和活化素等30种蛋白。在骨组织中, 转化生长因子 $\beta 1$ 的异构体约占转化生长因子 $\beta$ 的80%-90%, 不同转化生长因子 $\beta$ 基因中因其启动子的差异而表现出不同调节机制<sup>[4]</sup>。各种异构体在许多生物反应中表现出相似的作用, 其中以转化生长因子 $\beta 1$ 最为重要。

转化生长因子 $\beta 1$ 是包括受体和配体的超家族中的一员。是一族具有多种功能的蛋白多肽, 其基因定位于19q13.1染色体, cDNA全长2 745 bp, 人转化生长因子 $\beta 1$ 的cDNA5'端起始码ATG位于842-844位, 终止码ATG位于2 016-2 018位, 含有7个外显子, 6个内含子。人转化生长因子 $\beta 1$ 基因5'端序列包含5个明显的调控区: 1个类增强子(enhancer-like)活性区, 2个负调控区和2个启动子区, 成熟型转化生长因子 $\beta 1$ 是相对分子质量为25 000同源二聚体, 由两条相同的12.sKD亚单位肽链通过二硫键相连接, 每条单链含有112个氨基酸。大量存在于骨组织与血小板中, 其生物学活性主要包括: 促进成纤维细胞和巨噬细胞聚集, 细胞的生长增殖, 组织损伤的修复, 骨质再生<sup>[5]</sup>, 免疫抑制, 促进细胞外基质的合成, 增加金属蛋白酶组织抑制因子活性, 下调基质金属蛋白酶活性调节, 胚胎发育, 抗炎, 抑癌以及趋化作用等<sup>[6]</sup>。

人转化生长因子是调控重组骨髓间充质干细胞的首选生长因子之一<sup>[7]</sup>, 可以增强间充质干细胞的增殖, 并抑制间充质干细胞向脂肪细胞分化。骨微环境中潜在的转化生长因子 $\beta 1$ 激活对于调节控制骨重建过程有十分重要的作用<sup>[8]</sup>。其对软骨代谢的作用主要是: 诱导间充质细胞向软骨细胞分化, 促进软骨特异性基质的合成<sup>[9]</sup>, 如增加成骨细胞I型胶原的合成,

骨基质蛋白, 骨粘连素, 蛋白聚糖, 纤维结合蛋白的产生, 并保护软骨基质不被各种蛋白酶水解破坏, 也可诱导滑膜中的间充质细胞持续迁入软骨缺损处<sup>[10]</sup>。转化生长因子 $\beta 1$ 可产生抑制或刺激两种作用, 对软骨细胞的增殖分化具有双向调节作用<sup>[11-14]</sup>, 见表1, 其表达时间较转化生长因子 $\beta 2$ 和转化生长因子 $\beta 3$ 最长。

| 作者                   | 题目  | 结论  |
|----------------------|---|---|
| 田峰等 <sup>[11]</sup>  | 转化生长因子 $\beta 1$ 及白介素 $1\beta$ 对终板软骨细胞作用的实验研究       | 转化生长因子 $\beta 1$ 在一定浓度下可以促进软骨细胞的增殖, 当达到50 ng/L则表现为抑制增殖作用  |
| 顾海伦等 <sup>[12]</sup> | Ad-BMP-2和Ad-TGF- $\beta 1$ 共转染人退变椎间盘髓核细胞对细胞外基质代谢的影响 | 转化生长因子 $\beta 1$ 最佳理想的诱导软骨合成的质量浓度为100 $\mu\text{g/L}$   |
| 俞猛等 <sup>[13]</sup>  | 转化生长因子1和碱性成纤维细胞生长因子对骨髓基质干细胞增殖、分化的影响                 | 转化生长因子 $\beta 1$ 浓度为0.1-1.0 $\mu\text{g/L}$ 时促进间充质干细胞增殖、分化, 大于1.0 $\mu\text{g/L}$ 时为抑制作用        |
| 郑丽芳等 <sup>[14]</sup> | Snail基因沉默对转化生长因子 $\beta 1$ 促进骨髓间充质干细胞迁移的抑制作用        | 0.5-2.0 $\mu\text{g/L}$ 可促进间充质干细胞迁移, 在2 $\mu\text{g/L}$ 时达到高峰, 5-10 $\mu\text{g/L}$ 可抑制间充质干细胞迁移 |

2.2 转化生长因子 $\beta 1$ 相关生物组织工程与软骨代谢 一般认为, 转化生长因子 $\beta 1$ 呈剂量依赖性增强骨源性间充质细胞向软骨分化的作用, 对成骨细胞或成软骨细胞具有促进或降低分化的双重调节作用。在骨关节炎硬化区软骨下高表达的转化生长因子 $\beta 1$ 可以抑制骨关节炎成骨细胞的矿化<sup>[15]</sup>。郭静等<sup>[16]</sup>发现高表达的转化生长因子 $\beta 1$ 对软骨和滑膜区域细胞凋亡具有负性调节作用。而低剂量转化生长因子 $\beta 1$ 则可促进其形成破骨细胞。许多研究通过各种方法增强转化生长因子 $\beta 1$ 的表达来促进成骨及成软骨细胞的分化<sup>[17-18]</sup>。有文献报道转化生长因子 $\beta 1$ 最佳理想质量浓度为100  $\mu\text{g/L}$ <sup>[19]</sup>。但由于其表达量的不同, 软骨分化状态的不同, 所产生部位的不同和骨组织内环境的不同, 会导致调节作用的不同, 所以如何控制转化生长因子 $\beta 1$ 的表达量使它的成骨效应得到最大的发挥, 是值得进一步研究的问题。

转化生长因子 $\beta 1$ 可以促进骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化, 早期应用转化生长因子 $\beta 1$ 可提高骨髓基质干细胞的软骨分化能力, 易成清等<sup>[20]</sup>证实转化生长因子 $\beta 1$ 基因转染能显著提高间充质干细胞增值能力。转化生长因子 $\beta 1$ 可能通过蛋白多肽的正性调

节作用促进软骨细胞和成骨细胞内的转化生长因子  $\beta 2$  发挥其作用<sup>[21]</sup>。有研究显示转化生长因子  $\beta 1$  可促进重组人骨形态发生蛋白 2 对 MC3T3-E1 的增殖和成骨分化作用<sup>[22]</sup>。转化生长因子  $\beta 1$  能够通过增加 I 型胶原蛋白 mRNA、骨桥蛋白及 Runx2 的表达及碱性磷酸酶活性刺激鼠类骨髓间充质干细胞的成软骨分化。此外, 转化生长因子  $\beta 1$  还可以促进滑膜细胞的纤维样增殖, 使其分化成不同类型的软骨组织, 这可能与组织损伤的修复作用有关; 转化生长因子  $\beta 1$  可减少滑膜中炎性递质的释放, 减轻炎症对滑膜及软骨细胞的损害。

转化生长因子  $\beta 1$  促进软骨特异性基质的合成, 其可促进合成的细胞外基质有: 骨胶原蛋白类, 主要是 I 型胶原, 还有非胶原蛋白, 包括细胞黏附蛋白、骨桥蛋白、骨钙素等。转化生长因子  $\beta$  在促进鼠胚胎肌细胞分化成软骨细胞的同时, 可合成其特异性的 II 型胶原及硫酸软骨素蛋白多糖等<sup>[22]</sup>。有报道称转化生长因子  $\beta 1$  在骨基质沉积过程中对早期分化有刺激作用, 而对晚期分化的影响很小<sup>[23]</sup>。郑纪伟等<sup>[24]</sup>证实转化生长因子  $\beta 1$  对钛表面成骨细胞中骨钙素, 骨涎蛋白和 I 型胶原蛋白基因表达有促进作用。转化生长因子  $\beta 1$  刺激骨形态发生蛋白 1 的变化可能直接影响到细胞外基质中活性赖氨酰氧化酶的表达<sup>[25]</sup>。但也有报道显示转化生长因子  $\beta$  可在培养的胚胎细胞中诱导软骨生成和 II 型胶原合成, 而在成熟的软骨细胞中则抑制 II 型胶原的合成<sup>[26]</sup>。

另一方面, 转化生长因子  $\beta 1$  保护软骨基质不被各种蛋白酶水解破坏, 软骨基质可被金属蛋白酶破坏, 转化生长因子  $\beta 1$  可以调控基质金属蛋白酶的活性和表达特性, 被作为金属蛋白酶的抑制因子, 阻止其对细胞外基质的消化。Qureshi 等<sup>[27]</sup>使转化生长因子  $\beta 1$  通过 PI3K/Akt 通路诱导基质金属蛋白酶组织抑制因子表达, 有效阻止了关节软骨的降解。研究发现骨关节炎中转化生长因子  $\beta 1$  的高表达下调了关节软骨与滑膜中基质金属蛋白酶基质金属蛋白酶 9 的表达, 从而抑制了基质金属蛋白酶 9 对软骨的分解代谢, 保护关节软骨, 延缓骨关节炎的进展<sup>[28]</sup>。转化生长因子  $\beta 1$  对一氧化氮的拮抗能力对延缓骨关节炎的进展也有重要作用。

转化生长因子  $\beta 1$  在细胞内发挥的其生物效应的时间取决于半衰期的长短, 而活性转化生长因子  $\beta 1$

生物半衰期只有 2.0-3.0 min, 只能在细胞内发挥短暂的生物效应, 对于各种软骨退行性变或损伤的治疗, 需要转化生长因子  $\beta 1$  在体内发挥持续稳定的作用, 随着组织工程技术的发展, 我们可以将转化生长因子  $\beta 1$  作为有效目的基因, 然后利用基因转移技术将外源基因导入载体细胞, 将基因转染后的载体细胞注入体内, 使携有转化生长因子  $\beta 1$  基因的载体细胞在体内表达治疗产物, 转化生长因子  $\beta 1$  作为导入靶细胞的具有治疗潜能的外源基因, 要能够促进软骨细胞的增殖分化及细胞外基质的合成。这种基因转染的方法可以解决仅靠外源型细胞因子的缺陷, 而将编码转化生长因子  $\beta 1$  的基因转导入靶细胞内, 使靶细胞持续表达合成转化生长因子  $\beta 1$  促进组织修复及愈合。

近年来, 国内外学者将寻找多基因转染的种子细胞作为软骨组织工程的重点研究方向, 其定向诱导脂肪干细胞向软骨细胞分化及合成细胞外基质的作用远强于单一细胞因子发挥的作用。张平等<sup>[29]</sup>发现白细胞介素 1Ra 与转化生长因子  $\beta 1$  双基因组合抗白细胞介素 1 及肿瘤坏死因子  $\alpha$  的炎性作用优于单基因组。研究表明转化生长因子  $\beta 1$  与骨形态发生蛋白 2 联合作用更能促进骨髓间充质干细胞向软骨细胞诱导分化及分泌软骨特异性基质<sup>[30]</sup>。林成等<sup>[31]</sup>研究发现血管内皮生长因子和转化生长因子  $\beta 1$  对 NVBG 同期种植体骨结合早期(术后一两个月)有明显的促进作用。顾海伦等<sup>[12]</sup>研究发现应用 Ad-BMP-2、Ad-TGF- $\beta$  转染椎间盘髓核细胞, 可促进其中 aggrecan 和 II 型胶原合成, 同时上调 aggrecan 和 II 型胶原 mRNA 的表达。有实验证明培养的大鼠关节软骨细胞 DNA 合成速度可被转化生长因子  $\beta 1$  和胰岛素样生长因子 1 复合物提高 10 倍左右, 其发挥的作用远强于两种因子单独使用<sup>[32]</sup>。

但也有一些实验结果显示转化生长因子  $\beta 1$  与其他细胞因子的结合可对软骨代谢起到负性调节的作用, 如血管内皮生长因子可在骨关节炎病程中发挥炎性递质效应, 而抑制转化生长因子  $\beta 1$  的炎性调节作用, 导致滑膜炎形成及骨关节炎发生。转化生长因子  $\beta 1$  和胰岛素样生长因子 1 等细胞生长因子在加强软骨修复的作用的同时, 也能导致骨赘的形成<sup>[33]</sup>。由于不明机制作用, 使骨形态发生蛋白 2/转化生长因子  $\beta$  复合物的成骨功能被部分或完全抵消, 其效果不及二者单独使用的效果<sup>[34]</sup>。

2.3 转化生长因子 $\beta 1$ 相关基因多态性及与软骨代谢  
转化生长因子 $\beta 1$ 基因定位于19q13, 含6个内含子和7个外显子, 富含GC和Ap2序列, 是通过Ap2启动子的激活来实现基因水平的调节。国内外的研究证实存在多个可影响转化生长因子 $\beta 1$ 的转录和表达基因多态性, 包括-1348C/T、-765C/T、+29T/C、+869T/C、+915G/C、+788C/T、861-20T/C、-988C/A、-800G/A、和-509C/T等。其中转化生长因子 $\beta 1$ 基因29T>C单核苷酸多态性中TT基因型就被认为是促进颈椎前路自体髂骨椎间植骨融合的一个重要遗传因素<sup>[35]</sup>。国外报道称转化生长因子 $\beta 1$ 的表达上调与-509位点C→T突变有关。马进峰等<sup>[36]</sup>研究发现转化生长因子 $\beta 1$ 基因29T>C单核苷酸多态性中, TT基因型是影响骨肉瘤发病的一个重要遗传因素, 与骨循环和易骨折性有关。转化生长因子 $\beta 1$ 等位基因的变化与骨质疏松的发生及发展具有相关性<sup>[37]</sup>, 可通过上调微管蛋白, 肌动蛋白等的基因表达来提高人脐带间充质干细胞的迁移能力, 在基因水平上与人脐带间充质干细胞的翻译, 转录, 代谢, 生物合成, 信号转导, 细胞间连接, 细胞迁移具有相关性。

2.4 转化生长因子 $\beta 1$ 相关信号通路及软骨代谢  
转化生长因子 $\beta 1$ 信号对关节软骨具有的作用主要体现在使软骨细胞维持在未分化状态, 抑制其肥大分化。有实验证实被完全敲除Smad3的小鼠的关节软骨肥大分化并最终被骨组织替代, 软骨组织被各类组织蛋白酶降解<sup>[38]</sup>。转化生长因子 $\beta 1$ 通过与相应受体结合启动信号转导通路, 通过胞内信号分子进入细胞核内调节相关基因的表达<sup>[39]</sup>。转化生长因子 $\beta 1$ 信号一方面能够促进软骨细胞的生成, 分化, 增殖, 同时又可使软骨细胞的矿化和肥大作用遭到抑制<sup>[40]</sup>。这可能与转化生长因子 $\beta 1$ 的下游传导因子在不同软骨细胞中的浓度不同有关。转化生长因子 $\beta 1$ 信号对维持关节软骨具有很重要的作用, 但它的功能和表达是随着年龄的增加而表现为逐渐衰退<sup>[41]</sup>。

目前发现的转化生长因子 $\beta 1$ 受体有8种, 包括I型, II型, III型, IV型, Endoglin, PLBPs, GI-210, 其中PLBPs可能含有可结合转化生长因子 $\beta 1$ 和转化生长因子 $\beta 2$ 的两种受体。经大量研究证实I型和II型受体参与转化生长因子 $\beta 1$ 的信号传导已知的转化生长因子 $\beta$ 信号转导下游途径有两种, 分为Smad依赖性和Smad非依赖性。转化生长因子 $\beta 1$ Smad依赖性信号转导途径如下: 转化生长因子 $\beta 1$ 通过与

II型受体二聚体形成复合物, 使受体中的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶结构域发生磷酸化, 同时将I型受体中的GS结构域丝氨酸/苏氨酸磷酸化, Smad2和Smad3(R-Smads)受到活化的I型受体的磷酸化激活, 再与Smad4结合, 即经细胞膜将转化生长因子 $\beta 1$ 信号进入核内, 可直接与特定的DNA序列结合, 或与转录活化复合物或抑制物结合, 亦可与其他转录因子协同作用<sup>[42]</sup>, 所以I型与II型受体是转化生长因子 $\beta 1$ 信号传导的必需分子。通过R-Smads途径转化生长因子 $\beta 1$ 可以阻止软骨细胞向成熟方向分化, 进而阻止其凋亡发生。常有报道称转化生长因子 $\beta 1$ 对II型受体的刺激往往要强于I型受体, 这可能与转化生长因子 $\beta 1$ 激活两种受体的先后顺序有关。Smad2调控软骨形成的效应随着细胞类型, 细胞分化阶段和诱导条件差异亦有所区别。

Smad6和Smad7蛋白(I-Smads)则能拮抗转化生长因子 $\beta$ I型受体丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 它们通过与被激活的I型受体结合, 抑制R-smads的磷酸化, 从而阻断信号通路<sup>[43]</sup>。有研究发现骨形态发生蛋白7有可能通过抑制了转化生长因子 $\beta$ /Smad通路中Smad3 mRNA表达<sup>[44]</sup>, 增加Smad7 mRNA表达, 从而拮抗转化生长因子 $\beta 1$ 的促纤维化作用。而在对ALK1-Smad158信号通路的研究中发现此通路可以启动细胞的终末分化以及迁移<sup>[45]</sup>, 这可能是Smad蛋白家族成员对转化生长因子 $\beta$ 家族的双向调节作用的机制。杨晓等<sup>[46]</sup>为了证实Smad3介导的转化生长因子 $\beta 1$ 信号对关节软骨的影响, 分析了Smad3基因敲除小鼠骨骼相关表型, 结果发现系统或局部转化生长因子 $\beta 1$ 表达减少以及关节软骨细胞对转化生长因子 $\beta 1$ 的反应性降低与关节软骨的退行性变相关。转化生长因子 $\beta 1$ 激活的信号转导通路和糖皮质激素之间具有复杂的相互作用, 其机制有可能是转化生长因子 $\beta 1$ 的靶基因转录和信号转导被GC/GR通过与Smad的直接相互作用所抑制。

Smad非依赖性途径有MAPK通路、ERK和JNK、Wnt通路等, 有研究表明转化生长因子 $\beta 1$ 可以诱导ERK信号通路<sup>[47]</sup>, 而高浓度的转化生长因子 $\beta 1$ 则可激活P38MARK信号通路。说明转化生长因子 $\beta 1$ 可根据其浓度高低诱导不同的通路, 从而对破骨细胞的生成产生抑制或促进。另外, 转化生长因子 $\beta 1$ 促使成骨细胞和巨噬细胞释放RANKL和M-CSF等破骨细胞分化因子, 以促进破骨细胞的增殖分

化<sup>[48]</sup>。β-catenin 失活能促进软骨细胞分化, 同时也能促进软骨细胞分化中的细胞死亡。并且 RANKL 与 M-CSF mRNA 的表达水平与转化生长因子β1 的浓度具有相关性。也有文献称在褶皱部位的酸性环境下<sup>[49]</sup>, 转化生长因子β1 能够被处于骨吸收中的破骨细胞激活, 进一步刺激成骨细胞下调 RANKL 的表达, 并增加骨保护素的表达。使 RANKL/RANK 复合体的减少, 从而降低了破骨细胞的分化与活化。对转化生长因子β1 作用的研究会出现不同甚至有矛盾的结果这可能与转化生长因子β1 的来源、浓度及所使用细胞的不同有关。转化生长因子β1 对软骨代谢影响的信号通路示意图见图 1。

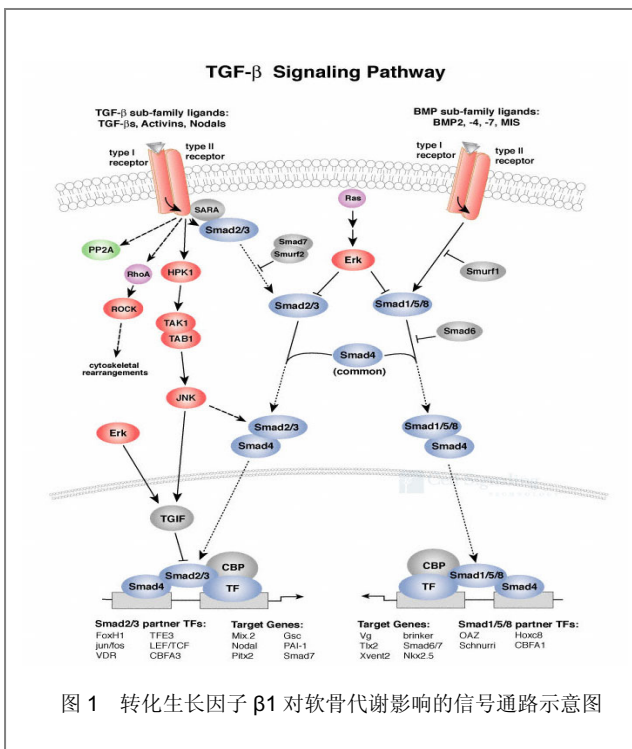


图 1 转化生长因子β1 对软骨代谢影响的信号通路示意图

**2.5 转化生长因子β1 相关 miRNA 与软骨代谢** miRNA 是指小型非编码 RNA 家族, 是一种非蛋白质的新型基因表达调控因子, 长度为 21-25 个核苷酸, 能够识别特定的靶 mRNA, 调控转录后 mRNA 的表达, 与细胞增殖、分化、凋亡等生物学行为有密切关系。miRNA 也是正常软骨发育的必要成分, 它参与了软骨形成的过程, 并且可能通过直接或间接的作用于 Runx3 与 Runx2 调控软骨细胞分化。转化生长因子β1 信号通路能通过启动 Runx2 基因表达, 使成骨分化相关基因激活。Runx2 可以调控如胶原酶 III, I 型胶原蛋白, 骨桥蛋白等成骨细胞分化特异性基因。而大量研究显示许多 microRNA 可通过抑制转录因子 Runx2 的表达抑制成骨细胞分化<sup>[50]</sup>。有研究发现

miRNA-140 表达于健康人关节软骨中, 而在骨关节炎患者软骨中 miRNA-140 的表达明显低于在正常软骨中的表达<sup>[51]</sup>。金苏梅等<sup>[52]</sup>研究发现骨髓间充质干细胞在体外诱导可以分化为软骨细胞的过程中, miR130a 表达降低伴随着软骨细胞的分化, 提示与软骨形成的过程有关。有研究人员发现经白细胞介素 1β 处理的软骨细胞中 miRNA-140 表达被抑制<sup>[53]</sup>, 而转染了 miRNA-140 的软骨细胞中由白细胞介素 1β 诱发的整合素样金属蛋白酶与凝血酶 1 型 5 的表达被下调证实转化生长因子β3 驱动的间充质干细胞成软骨分化中, miR-145 表达下调能有效促进间充质干细胞向软骨细胞定向分化, 其调控机制是通过转录后水平调节 Sox9 蛋白表达, 从而以 Sox9 为重要介导因子, 特异性参与调控间充质干细胞成软骨分化进程。张秀梅等<sup>[54]</sup>研究发现 miR-29b 可以抑制转化生长因子β3 蛋白的翻译从而增加 Runx2 的表达, 以促进韧带成纤维细胞向成骨细胞分化。

### 3 讨论

软骨组织主要由软骨细胞基质和纤维组成, 其自身不含神经, 血管和淋巴管, 供应软骨的营养物质需从软骨外血液和淋巴液中通过渗透作用进入软骨基质, 营养软骨细胞, 由于软骨本身的组织结构和发育的特点, 导致其损伤后的再生能力较弱, 通过自体修复形成的纤维组织亦无法恢复软骨的原有承重, 耐磨以及高弹性模量等功能。因此研究人员提出应用组织工程技术, 重新构建软骨组织, 当软骨发生缺损或退变时, 软骨细胞分泌转化生长因子β1 能力下降, 从而导致软骨特异性基质合成的能力下降, 软骨细胞的增殖分化能力减弱, 同时接促进了软骨细胞的肥大性分化。

综上所述, 如果将经过转化生长因子β1 诱导形成的组织工程软骨运用于临床治疗, 能够增强软骨组织自身再生能力, 实现使软骨的损伤逆转, 将为骨关节炎等以关节软骨破坏为主的疾病的治疗提供新的方法。目前虽然对转化生长因子β1 调控成软骨细胞代谢的机制有了一定的研究, 但是还存在许多的问题需要进一步研究: 转化生长因子β1 因其浓度的变化而对软骨代谢产生双向调节影响, 但是对此浓度值为多少时会引起正性或负性调节并不了解, 国内外对此



方面的研究亦不多见。在许多研究中将转化生长因子β1表达上调做为判定药物治疗骨关节炎的疗效标准之一,但由于其双向调节的作用,它在什么情况下或升高到何种浓度时能够成为成为治疗骨关节炎的疗效标准之一还有待进一步研究。目前已知转化生长因子β1能与相关的其他细胞因子和生长因子相互作用,对软骨代谢产生协同或拮抗作用,但是对它的作用机制尚不明确,还需在分子水平及信号通路方面对其进行研究,探讨生长因子之间的相互作用以及生物安全性等方面的问题。所以将转化生长因子β1应用于临床软骨修复的相关研究还有待对转化生长因子β1深入的探讨。

**基金资助:** 甘肃省教育厅科研项目(1106B-16),课题题目: 膝骨性关节炎中医体质与调体治疗的临床研究。

**作者贡献:** 第一作者构思并设计本综述,第一作者解析相关数据,第一作者对本文负责。第二作者审校。

**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:** 无涉及伦理冲突的内容。

**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。

#### 4 参考文献

- Li H, Haudenschild DR, Posey KL, et al. Comparative analysis with collagen type II distinguishes cartilage oligomeric matrix protein as a primary TGFβ-responsive gene. *Osteoarthritis Cartilage*. 2011; 19(10): 1246-1253.
- Everett ET. Fluoride's effects on the formation of teeth and bones, and the influence of genetics. *Dent Res*. 2011;90(5): 552-560.
- Tachi K, Takami M, Sato H, et al. Enhancement of bone morphogenetic protein-2-induced ectopic bone formation by transforming growth factor-β1[J]. *Tissue Eng Part A*. 2011;17(5-6):597-606.
- 尹君,高传芳. 浅议TGF-β与原发性骨质疏松[J]. *临床医学*, 2011, 26:86-87.
- 王惠娟,董进. 转化生长因子β对成骨细胞增殖、BMP-2及Cbfal基因表达的影响[J]. *中国当代医药*, 2011, 18(22):21-23.
- Wakefield LM, Stuehcn C. Keeping order in the neighborhood: new roles for TGF beta in maintaining epithelial homeostasis. *Cancer Cell*, 2007;4: 293-295.
- Sila Asna M, Bunyaratvej A, Maeda S, et al. Osteoblast differentiation and bone formation gene expression in strontium inducing bone marrow mesenchymal stem cell. *Kobe J Med Sci*. 2007;53(12):25-35.
- 王维刚,王志刚,李大鹏,等. 骨肽对骨髓间充质干细胞TGF-β1表达的影响[J]. *中国实验诊断学*, 2012, 16(4): 607-608.
- 樊志强,庞炜,杨连甲,等. 白介素1受体拮抗剂及转化生长因子β1对兔膝关节骨性关节炎(OA)的治疗研究[J]. *现代生物医学进展*, 2011, 11(13):2447-2450
- 陈宁杰. 血管内皮细胞生长因子和转化生长因子β1在骨关节炎滑膜组织中的表达及相关性[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(2):288-291.
- 田峰,崔学生,张帅,等. 转化生长因子β1及白介素-1β对终板软骨细胞的作用[J]. *重庆医学*, 2012, 41(1): 36-37, 39.
- 顾海伦,刘莉,王欢,等. d-BMP-2和Ad-TGF-β1共转染人退变椎间盘髓核细胞对细胞外基质代谢的影响[J]. *生物医学工程与临床*, 2009, 13(1):58-61.
- 俞猛,于方,付胜良,等. TGF-β1和bFGF对骨髓基质干细胞增殖、分化的影响[J]. *中国骨肿瘤骨病*, 2006, 5(6): 321-325.
- 郑丽芳,张小乔,张红,等. Snail基因沉默对转化生长因子-β1促进骨髓间充质干细胞迁移的抑制作用[J]. *解剖学报*, 2008, 39(5): 717-722.
- Couchourel D, Aubry I, Delalandre A, et al. Altered mineralization of human osteoarthritic osteoblasts is attributable to abnormal type I collagen production. *Arthritis Rheum*. 2009;60(5):1438-1450.
- 郭静,李琪佳. TGF-β1在骨性关节炎中的表达及与关节软骨和滑膜细胞凋亡的关系[J]. *中国煤炭工业医学杂志*, 2008, 11(4): 462-465.
- 孔祥英,万蓉,李莉,等. 不同治法方药对激素性股骨头坏死鸡成骨相关因子的影响[J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(5):614-617.
- 王磊磊,金格勒,任龙龙,等. 不同植骨材料在腰椎融合过程中的应用及转化生长因子β的表达[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(16):2885-2888.
- 鲁茂森,夏亚一,袁凌伟,等. 转化生长因子β1与软骨源性形态发生蛋白1修复关节软骨缺损[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(50):9824-9826
- 易成清,曹云,马成辉,等. pAD-TGF-β1骨组织工程种子细胞转归的转基因保护[J]. *国际骨科学杂志*, 2011, 32(2):127-135.
- 胡振宇. TGF-β1促进rhBMP-2对成骨前体细胞增殖分化的观察[J]. *口腔颌面外科杂志*, 2012, 22(1):24-26.
- 杨冠,杨晓. TGF-β超家族在软骨发生、发育和维持中的作用[J]. *遗传*, 2008, 30(8):953-959.
- Cabiling DS, Kim E, Yan D, et al. Differentialeffects of TGF-beta isoforms on murine fetal dural cells and calvarialosteoblasts. *Plast Reconstr Surg*. 2007;120(3): 614-624.
- 郑纪伟,高玉光,胡庭庭,等. 骨涎蛋白、骨桥蛋白在小鼠骨组织和牙胚组织发育中的表达[J]. *中国口腔颌面外科杂志*, 2009, 6(12): 123-128.
- 尹琳,谢静,蒋稼欢,等. TGF-β1刺激下损伤的前交叉韧带和内侧面副韧带中BMP-1基因的表达[J]. *第三军医大学学报*, 2012, 34(7): 647-650.
- 吴剑. 转化生长因子β与骨关节炎的研究进展[J]. *医学综述*, 2009, 15(13):1929-1931.
- Qureshi HY, Ahmad R, Sylvester J, et al. Requirement of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway for regulation of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 gene expression by TGF-beta in human chondrocytes. *Cell Signal*. 2007;19(8): 1643-1651.
- 郭静,张文丽,李琪佳,等. 基质金属蛋白酶9及TGF-β1 mRNA和蛋白在骨关节炎中的表达[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2011, 25(8): 992-997.

- [29] 张平,蔡道章,刘斌. 转 IL-1Ra 和 TGF- $\beta 1$  基因治疗兔骨性关节炎[J]. 中华关节外科杂志,2011,5(3):335-422.
- [30] 张清林,吕惠成,吴一民. 转化生长因子 $\beta 1$ 联合骨形态发生蛋白2诱导骨髓间充质干细胞体外向软骨细胞的分化[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2010,14(24):4371-4375.
- [31] 林成,刘宝林,刘彦普,等. VEGF和TGF- $\beta 1$ 促进非血管化骨移植同期种植骨结合的实验研究[J]. 实用口腔医学杂志,2011,27(1):12-16.
- [32] Hajishengallis G, Wang M, Liang S. Induction of distinct TLR2- mediated proinflammatory and proadhesive signaling pathways in response to Porphyromonas gingivalis fimbriae. *J Immunol.*2009;182(1): 6690- 6696.
- [33] 陈波,谢西梅,李佳霖,等. 艾灸治疗对兔 KOA 软骨损伤及 TNF- $\alpha$ 、TGF-  $\beta 1$ 和IGF- 1 表达调节作用的实验研究[J]. 江苏中医药,2009,41(6):69-71.
- [34] 蒋滔,程祥荣,夏海滨,等. rhBMP-2/rhTGF- $\beta 1$ 联合应用对兔成骨样细胞增殖及分化的影响[J]. 口腔颌面修复学杂志,2005,6(1):1-3.
- [35] 袁百胜,陈晓亮,栾军伟. 转化生长因子 $\beta 1$ 基因29T >C单核苷酸多态性与脊柱融合的相关性[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2009,13(24):4686-4689.
- [36] 马进峰,周东生,马学晓,等. TGF- $\beta 1$ 基因29T>C单核苷酸多态性与骨肉瘤的关联研究[J]. 中国矫形外科杂志,2010,18(18):1510-1513.
- [37] 曲攀,高秀秋. 2型糖尿病伴牙周病大鼠牙槽骨中转化生长因子 $\beta 1$  mRNA的表达[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2010,14(46):8576-8580.
- [38] Yang X, Chen L, Xu X, et al. TGF-beta/Smad3 signals repress chondrocyte hypertrophic differentiation and are required for maintaining articular cartilage. *J Cell Biol.*2001;153(1): 35-46.
- [39] Andrew WT. Review of the activation of TGF- $\beta 1$  in immunity. *Leukoe Biol.*2009;85:29-33.
- [40] Yang X, Chen L, Xu X, et al. TGF-beta/ Smad3 signals repress chondrocyte hypertrophic differentiation and are required for maintaining articular cartilage. *J Cell Biol.*2001;153(1):35-46.
- [41] Blaney Davidson EN, Scharstuhl A, Vitters EL, et al. Reduced transforming growth factor—beta signaling in cartilage of old mice: role in impaired repair capacity. *Arthritis Res Ther.* 2005; 7(6): R1338 -1347.
- [42] 万晓晨,刘翠平,陈海啸,等. TGF- $\beta$ /骨形态发生蛋白、Wnt 和 MAPK 信号通路在间充质干细胞向成骨细胞分化中的作用[J]. 细胞生物学杂志,2010,30:697-700.
- [43] 阎新龙,刘兵,毛宁. 间充质干细胞迁移特性的研究进展. [J]. 中国实验血液学杂志2009,17(4):1101-1105.
- [44] 武鹏宇,戴立里,唐静,等. 骨形态发生蛋白-7对人肝星状细胞转化生长因子 $\beta$ 信号转导的影响[J]. 第三军医大学学报,2010, 32(13): 1433-1437.
- [45] 孙啸. 骨关节炎进程中软骨细胞膜受体 ALK1在软骨 TGF $\beta$  信号通路中的作用及调控[J]. 中国骨与关节外科,2012,5(1): 88-92.
- [46] 杨晓. Smad4 介导转化生长因子 $\beta$  信号调节骨骼发育和稳态维持的功能[J]. 生命科学,2008,20(2):165-169.
- [47] Kale VP. Differential activation of MAPK signaling pathways by TGF-beta1 forms the molecular mechanism behind its dose-dependent bidirectional effects on hematopoiesis. *Stem Cells and Development* .2004;13(1):27-38.
- [48] Janssens, ten Dijke P, Janssens S, et al. Transforming growth factor-beta1 to the bone. *Endocr Rev.*2005;26(6):743-774.
- [49] Quinn JM, Itoh K, Udagawa N, et al. Transforming growth factor b affects osteoclast differentiation via direct and indirect actions. *Bone Miner Res.*2001; 10:1787-1794.
- [50] 周名亮,李谧,余希杰. 微小RNA对成骨细胞分化成熟的调控及临床意义[J]. 中国修复重建外科杂志,2012,26(6):761-765.
- [51] Miyaki S, Nakasa T, Otsuki S, et al. MicroRNA-140 is expressed in differentiated human articular chondrocytes and modulates interleukin-1 responses. *Arthritis Rheum.* 2009, 60(9): 2723-2730.
- [52] 苏金梅,金晔,曲强,等. 骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化过程中miR130a的表达[J]. 基础医学与床,2010,30(5):520-523.
- [53] Miyaki S, Sato T, Inoue A, et al. MicroRNA-140 plays dual roles in both cartilage development and homeostasis. *Genes Dev.* 2010, 24(11):1173-1185
- [54] 张秀梅,崔亚洲,周小艳,等. microRNAs 参与韧带成纤维细胞成骨分化相关分子表达的调节[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2011,27(6):540-547.