

• 综述 •

骨膜在牵拉成骨中的作用研究进展



付繁刚, 张镨

滨州医学院附属医院创伤骨科 (山东滨州 256600)

【摘要】 目的 综述骨膜在牵拉成骨过程中作用的研究进展。方法 广泛查阅近年来国内外有关骨膜在牵拉成骨过程中作用的文献, 分析总结骨膜在牵拉成骨中的作用机制及其影响因素。结果 骨膜富含新骨生成所必需的各种细胞 (MSCs、成骨细胞等)、微血管及各种生长因子等, 为牵拉成骨过程中新骨的生成提供必要的细胞支持、营养物质支持及代谢调节, 能显著促进牵拉成骨过程中新骨的生成。结论 骨膜在牵拉成骨过程中起着非常重要的作用。

【关键词】 骨膜; 牵拉成骨; 研究进展

Research progress of the role of periosteum in distraction osteogenesis

FU Fangang, ZHANG Kai

Department of Orthopedics, Binzhou Medical University Hospital, Binzhou Shandong, 256600, P.R.China

Corresponding author: ZHANG Kai, Email: zhangkai@vip.163.com

【Abstract】 Objective To review the research progress of the role of periosteum in distraction osteogenesis. **Methods** The related domestic and foreign literature about the role of periosteum in distraction osteogenesis in recent years was extensively reviewed, summarized, and the mechanism and influencing factors of periosteum during traction and osteogenesis were analyzed. **Results** The periosteum is rich in all kinds of cells (mesenchymal stem cells, osteoblasts, etc.), microvessel and various growth factors, which are necessary for the formation of new bone. It can promote the formation of new bone in the process of traction osteogenesis significantly. **Conclusion** The periosteum plays an important role in the progress of distraction osteogenesis.

【Key words】 Periosteum; distraction osteogenesis; research progress

Foundation item: Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2015HL026)

牵拉成骨是指在骨断端两侧安放牵张装置, 经过缓慢牵拉, 间隙内不断形成新生骨组织, 从而达到骨延长、修复骨缺损目的的一种技术。牵拉成骨过程中新骨的生成方式主要是膜内成骨, 即由 MSCs 分化为成骨细胞并分泌骨基质, 最终矿化成骨。骨膜是 MSCs、成骨细胞等细胞的聚集地, 是牵拉成骨过程中新骨生成细胞的主要来源之一, 为新骨生成提供必要的细胞支持。此外, 新骨生成还需要多种生长因子的调节作用, 而骨膜中富含这些生长因子, 对牵拉成骨有着明显促进作用。新血管的生成是成骨的前提和基础, 骨膜丰富的血管能为新骨生成提供充足的营养物质。因此, 骨膜在牵拉成骨过程中起着不可或缺的作用。最大程度保留骨膜组

织不论是在牵拉成骨还是在骨折手术中都已成为一项基本原则。现对骨膜在牵拉成骨过程中的作用机制及其影响因素等进行综述。

1 骨膜在牵拉成骨过程中的作用

1.1 骨外膜的成骨作用

牵拉成骨会产生膜内成骨, 骨折端新骨的再生能力主要依赖于成骨细胞的诱导作用及其向新骨形成区的迁移能力^[1-4]。新生骨组织主要是通过 MSCs 向成骨细胞分化进而分泌骨基质形成, 而骨膜中富含这些具有成骨能力的细胞。Nakahara 等^[5]用小鼠进行颅骨牵拉成骨实验, 实验组骨膜被完全剥离, 对照组骨膜保存完整, 牵拉后测量发现对照组新骨生成量显著高于实验组, 证明了骨膜具有良好的成骨能力。Takushima 等^[6]以兔进行牵拉实验, 将兔随机分为实验组 (剥离骨膜) 和对照组 (单

DOI: 10.7507/1002-1892.201701073

基金项目: 山东省自然科学基金资助项目 (ZR2015HL026)

通信作者: 张镨, Email: zhangkai@vip.163.com

纯牵拉不剥离骨膜), 切开兔胫骨皮质后实验组剥离断端周围 1 cm 内的骨膜, 对照组不剥离骨膜, 牵拉一段时间后发现实验组兔截骨间隙内新骨含量相比对照组明显减少。此外, 他们还通过向兔胫骨牵拉间隙内注射骨膜细胞来进一步研究骨膜的成骨效应。他们将兔随机分为实验组和对照组, 两组均剥离胫骨牵拉端周围 1 cm 内的骨膜, 实验组剥离对侧胫骨的骨膜并分离出骨膜细胞, 然后将骨膜细胞培养后植入牵张间隙内, 对照组不向牵张间隙内注射骨膜细胞; 结果显示, 实验组兔胫骨间隙内骨质生成较对照组明显增多, 骨愈合时间缩短。一系列实验均证实, 骨膜在牵拉成骨过程中能明显增加骨质生成、缩短骨愈合周期, 在骨愈合过程起着不可或缺的作用。

牵拉成骨是一个复杂的生物级联反应过程, 牵拉端新骨痂的生成不仅需要各种具有成骨能力的细胞, 还需要各种生长因子的协同作用^[7-9]。骨膜能合成 BMPs、TGF- β 及 IGFs 等重要生长因子^[10-12], 这些因子能调节骨原细胞、成骨细胞等细胞的增殖、分化及代谢功能, 通过自分泌及旁分泌机制来启动和调控骨再生过程。大量实验结果表明^[13-14], 在牵拉成骨过程中包括 BMPs、TGF- β 在内的多种生长因子均高度表达, 局部应用这些生长因子不仅对牵拉端新骨生成有着明显促进作用, 还能加快骨质矿化速率, 增加新骨质量。

1.2 骨外膜的营养作用

牵拉成骨是一个血管生成依赖的过程。在牵拉成骨实验中, 对成骨区血供进行观察, 结果发现每个新生骨柱都被丰富的血管窦包绕, 而这些新血管主要由骨膜供养, 没有血管的再生就不会有骨组织和其他组织的修复^[15]。Choi 等^[16]对大鼠进行牵拉胫骨实验, 通过透射电镜观察牵拉区血管变化, 发现骨髓内血管和骨膜血管生成均增加, 但骨膜血管的生成量多于骨髓内血管。Casap 等^[17]进行了兔下颌骨牵拉实验, 向实验组的牵张间隙内加入外源性 VEGF, 促进牵张区血管生成, 而对照组在牵张间隙注射等量生理盐水, 结果发现实验组兔牵张区新骨生成较早且骨量明显多于对照组, 证实了血管在牵拉成骨中的重要作用; 而骨膜含有丰富的微血管, 因此该实验也从另一方面证实了骨膜在牵拉成骨中的重要作用。

1.3 骨外膜的引导作用

骨外膜由于其膜性结构能够阻挡成纤维细胞、脂肪组织等在牵张间隙的聚集, 在骨质愈合过程中最大程度减少了牵拉端软组织的嵌入, 有利于具有

成骨潜能细胞的进入、增殖^[18], 从而起到促进新骨生成的作用。有实验表明, 在截骨后当骨外膜缺失、不连续时, 成纤维细胞由于失去了骨膜的屏障作用而快速聚集在截骨部位, 大量纤维结缔组织在截骨处形成, 阻碍了新骨的生成。基于该原理的引导骨组织再生技术现已应用于临床, 成为治疗骨缺损的一种方法。

1.4 骨膜牵拉成骨

有学者通过实验发现, 在不切开骨皮质的情况下, 单独对骨膜进行牵拉也能刺激骨膜中具有成骨潜能的细胞向成骨细胞分化, 诱导骨膜下形成新骨, 因此提出了骨膜牵拉成骨的概念。Schmidt 等^[19]通过将兔下颌骨骨膜牵开, 在骨膜下安置牵张装置, 发现在牵开的骨膜下有大量成骨细胞聚集, 与未行骨膜牵拉的对照组相比新生骨质明显增加, 该实验证明了骨膜牵拉成骨的可行性。刘亚等^[20]以山羊为实验对象, 在两侧下颌骨骨膜下分别放置牵张装置, 不作皮质切开, 定期牵拉一侧骨膜, 另一侧不作牵拉, 分别于 30、45、60 d 处死山羊, 通过组织学观察到牵拉骨膜侧有明显新骨生成, 而对侧未见新生骨组织。这些实验都证明了骨膜牵拉成骨的可行性, 但骨膜牵拉成骨主要是促进骨膜下横向骨生成, 且骨量相对有限, 因此在临床中的应用较局限。

2 影响骨膜在牵拉成骨过程中成骨作用的因素

2.1 截骨方式

骨膜成骨作用的强弱与截骨过程中是否保留骨膜组织的完整性密切相关。牵拉成骨要求低能量截骨, 使用骨凿和旋转截骨术进行皮质骨截骨, 能最大程度保留骨内膜的血液供应, 成骨效果明显。高能量截骨(如摆锯截骨)会产生大量热量, 导致截骨平面骨细胞及周围组织坏死, 从而影响骨生长进程。此外, 骨膜外截骨和骨膜下截骨对骨膜成骨的影响也不同。任志勇等^[21]以家兔为动物模型, 通过骨膜外截骨(实验组)和骨膜下截骨(对照组)两种不同方式对家兔胫骨进行截骨, 牵拉后比较两种截骨方式对牵拉端骨生成的影响。对照组先在家兔胫骨前方切开骨膜, 然后环形剥离骨膜, 最后再用线锯在骨膜下截骨; 实验组不进行骨膜环形剥离, 直接用线锯在骨膜外进行截骨。术后经过 7 d 间歇期后开始牵拉, 共牵拉 20 d, 于术后 27、37 d 通过 HE 染色和影像学检查发现, 实验组家兔截骨端骨组织成熟度及新骨量明显高于对照组。

该实验结果证实了骨膜外截骨比骨膜下截骨在牵拉成骨中更有利于骨痂生成这一结论。骨膜下截骨因其环形剥离骨膜,破坏了骨断端的血运,营养物质供应减少,最终导致新骨生成减少;骨膜外截骨仅截断骨膜,未剥离骨膜,最大程度地保留了牵拉区的血供。

2.2 机械牵张应力

牵拉成骨过程中新骨生成主要是骨膜受牵拉所致,当骨断端受到牵拉时,骨膜也受到相应张力,骨膜中未完全分化的成骨细胞和 MSCs 分化成具有较高活性的成骨细胞,分泌大量细胞外基质,经过一系列反应后最终矿化成骨。骨膜在牵拉成骨过程中的成骨作用受牵张应力的大小、频率、速度等因素的影响。不论是在动物牵拉成骨实验中,还是在临床牵拉成骨应用中,截骨后通常要进行截骨端的加压,保证骨膜断端充分接触,增加骨膜的愈合速度,从而促进牵拉成骨反应。

一般认为,过小的牵张力不能有效刺激骨膜中 MSCs 和成骨细胞的分化,导致废用性骨丢失;而过高的牵张力会产生病理性编织骨,同样不利于骨折愈合^[22]。Weyts 等^[23]通过成骨细胞牵张应力实验证明了不同大小的牵张力对成骨细胞的分化有着不同影响。来源于骨膜的成骨细胞受到张力后,其表面的钙离子通道复合体、G 偶联蛋白、各种生长因子受体等被激活,通过一系列复杂的信号传导通路完成自身的增殖分化。

骨膜在牵拉成骨过程中的成骨作用除了受牵张应力大小的影响外,还与牵拉频率密切相关,周期性应力的成骨效能优于持续性应力的成骨效能。Winter 等^[24]通过细胞学实验发现,周期性应力与连续性应力相比,在周期性应力条件下成骨细胞增殖分化明显,成骨效应较佳。

牵张速度也是影响骨膜在牵拉成骨过程中成骨效能的一种重要因素。有研究表明^[25],在牵拉成骨过程中以较低的牵张速度牵拉骨折端,有利于骨膜中的 MSCs 和成骨细胞在骨折端的进入、增殖和分化,还有利于血管的生成,为骨折愈合提供丰富的营养物质,促进新骨质生成。Choi 等^[26]以不同速度牵拉大鼠胫骨,实验结果表明 0.5 ~ 1.0 mm/d 的牵拉速度最有利于骨膜内成骨细胞分化,骨折端愈合较快。

2.3 物理治疗

大量实验证明,负重锻炼、低频超声波、电磁场刺激、电刺激、高压氧等物理治疗方法能增强骨膜在牵拉成骨过程中的成骨作用。这些物理治疗

方法能促进骨膜成骨的根本机制是对骨膜产生应力作用,而骨膜中的成骨细胞对张力变化较敏感,导致成骨细胞膜上的张力感受器对应力变化作出反应,诱导成骨细胞等分泌细胞外基质,促进骨质愈合。物理治疗除了对骨膜中具有成骨潜能的细胞产生影响外,还能通过刺激骨膜促进 VEGF 等加速骨断端部位的血管再生。Moore 等^[27]通过牵拉成骨实验证明了包括负重锻炼在内的物理治疗能有效促进骨膜部位新生血管的生成,且外骨膜对张力变化的感应比内骨膜更加敏感。此外,Kesemenli 等^[28]在牵拉成骨实验中通过应用脉冲电磁场刺激截骨端,发现其能加速新骨的生成和钙化。

2.4 生长因子

骨膜能合成多种生长因子,参与骨组织的再生与修复。BMP 在这些生长因子中尤其重要,大量实验证明它是目前最强的骨诱导因子^[29]。Issa 等^[30]通过大鼠下颌骨牵拉实验发现,在牵拉端骨膜分泌 BMP-2 增多,而生成的 BMP-2 又能诱导骨膜中的骨祖细胞向成骨细胞和成软骨细胞分化,加速新骨的生成和钙化。此外,有学者把分离出的 TGF- β 注射到小鼠股骨骨膜下,发现该因子能诱导骨膜 MSCs 向成骨细胞及成软骨细胞分化,并刺激这些细胞增殖和细胞外基质蛋白形成。其他一些生长因子,如 FGF、IGF 等也能诱导骨膜中具有成骨作用的细胞发生增殖、分化,促进膜内成骨和软骨内成骨的发生。近年来,人们不断对生长因子在牵拉成骨中的作用进行研究,但其具体分子机制及各因子间的相互作用尚不清楚。

3 小结

近年来,人们不断对骨膜在牵拉成骨过程中的作用进行研究,骨膜在牵拉成骨过程中的重要作用也逐渐得到认可。为了更好地应用牵拉成骨技术治疗骨髓炎、骨不连、骨缺损等疑难病症,应充分发挥骨膜在牵拉成骨过程中的作用,但其具体作用机制还需要进一步研究。

参考文献

- 1 Augustin G, Antabak A, Davila S. The periosteum. Part 1: Anatomy, histology and molecular biology. *Injury*, 2007, 38(10): 1115-1130.
- 2 Lin Z, Fateh A, Salem DM, et al. Periosteum: biology and applications in craniofacial bone regeneration. *J Dent Res*, 2014, 93(2): 109-116.
- 3 Colno C. Skeletal cell fate decisions within periosteum and bone marrow during bone regeneration. *J Bone Miner Res*, 2009, 24(2): 274-282.

- 4 Ferretti C, Mattioli-Belmonte M. Periosteum derived stem cells for regenerative medicine proposals: Boosting current knowledge. *World J Stem Cells*, 2014, 6(3): 266-277.
- 5 Nakahara K, Haga-Tsujimura M, Iizuka T, *et al.* Periosteum-Induced Bone Formation by Distraction Osteogenesis: Histologic and Microcomputed Tomography Analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 2016, 31(4): 785-792.
- 6 Takushima A, Kitano Y, Harii K. Osteogenic potential of cultured periosteal cells in a distracted bone gap in rabbits. *J Surg Res*, 1998, 78(1): 68-77.
- 7 Hoffman MD, Benoit DS. Emulating native periosteum cell population and subsequent paracrine factor production to promote tissue engineered periosteum-mediated allograft healing. *Biomaterials*, 2015, 52: 426-440.
- 8 Yiannakopoulos CK, Kanellopoulos AD, Trovas GP, *et al.* The biomechanical capacity of the periosteum in intact long bones. *Arch Orthop Trauma Surg*, 2008, 128(1): 117-120.
- 9 拓振合, 赵琳, 王栓科, 等. 组织工程骨膜及脱蛋白骨辅助支架修复兔桡骨大段骨缺损. *中国修复重建外科杂志*, 2014, 28(4): 511-516.
- 10 Chang H, Knothe Tate ML. Concise review: the periosteum: tapping into a reservoir of clinically useful progenitor cells. *Stem Cells Transl Med*, 2012, 1(6): 480-491.
- 11 Hoffman MD, Xie C, Zhang X, *et al.* The effect of mesenchymal stem cells delivered via hydrogel-based tissue engineered periosteum on bone allograft healing. *Biomaterials*, 2013, 34(35): 8887-8898.
- 12 Colnot C, Zhang X, Knothe Tate ML, *et al.* Current insights on the regenerative potential of the periosteum: molecular, cellular, and endogenous engineering approaches. *J Orthop Res*, 2012, 30(12): 1869-1878.
- 13 Fujio M, Yamamoto A, Ando Y, *et al.* Stromal cell-derived factor-1 enhances distraction osteogenesis-mediated skeletal tissue regeneration through the recruitment of endothelial precursors. *Bone*, 2011, 49(4): 693-700.
- 14 Zhang WB, Zheng LW, Chua DT, *et al.* Expression of bone morphogenetic protein, vascular endothelial growth factor, and basic fibroblast growth factor in irradiated mandibles during distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg*, 2011, 69(11): 2860-2871.
- 15 van Gastel N, Torrekens S, Roberts SJ, *et al.* Engineering vascularized bone: osteogenic and proangiogenic potential of murine periosteal cells. *Stem Cells*, 2012, 30(11): 2460-2471.
- 16 Choi IH, Chung CY, Cho TJ, *et al.* Angiogenesis and mineralization during distraction osteogenesis. *J Korean Med Sci*, 2002, 17(4): 435-447.
- 17 Casap N, Venezia NB, Wilensky A, *et al.* VEGF facilitates periosteal distraction-induced osteogenesis in rabbits: a micro-computerized tomography study. *Tissue Eng Part A*, 2008, 14(2): 247-253.
- 18 Hoffman MD, Benoit DS. Emerging ideas: Engineering the periosteum: revitalizing allografts by mimicking autograft healing. *Clin Orthop Relat Res*, 2013, 471(3): 721-726.
- 19 Schmidt BL, Kung L, Jones C, *et al.* Induced osteogenesis by periosteal distraction. *J Oral Maxillofac Surg*, 2002, 60(10): 1170-1175.
- 20 刘亚, 宋庆高, 尹鑫海, 等. 下颌骨骨膜牵张成骨的实验研究. *遵义医学院学报*, 2008, 31(2): 30-32.
- 21 任志勇, 李涛, 张维彬, 等. 兔胫骨干骺端骨膜外截骨对延长区成骨作用的影响. *中国矫形外科杂志*, 2015, 23(2): 150-155.
- 22 黎润光, 邵景范, 魏明发. 机械牵张应力对成骨细胞的影响研究进展. *中国矫形外科杂志*, 2006, 14(6): 457-460.
- 23 Weyts FA, Bosmans B, Niesing R, *et al.* Mechanical control of human osteoblast apoptosis and proliferation in relation to differentiation. *Calcif Tissue Int*, 2003, 72(4): 505-512.
- 24 Winter LC, Walboomers XF, Bumgardner JD, *et al.* Intermittent versus continuous stretching effects on osteoblast-like cells *in vitro*. *J Biomed Mater Res A*, 2003, 67(4): 1269-1275.
- 25 孙溪饶. 牵引速率及频率对牵张成骨的影响. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(41): 7727-7730.
- 26 Choi IH, Shim JS, Seong SC, *et al.* Effect of the distraction rate on the activity of the osteoblast lineage in distraction osteogenesis of rat's tibia. Immunostaining study of the proliferating cell nuclear antigen, osteocalcin, and transglutaminase C. *Bull Hosp Jt Dis*, 1997, 56(1): 34-40.
- 27 Moore DC, Leblanc CW, Müller R, *et al.* Physiologic weight-bearing increases new vessel formation during distraction osteogenesis: a micro-tomographic imaging study. *J Orthop Res*, 2003, 21(3): 489-496.
- 28 Kesemenli CC, Subasi M, Kaya H, *et al.* The effects of electromagnetic field on distraction osteogenesis. *Yonsei Med J*, 2003, 44(3): 385-391.
- 29 詹玉林, 侯国柱, 安智全, 等. 兔骨缺损模型中骨膜对骨形态发生蛋白-2 分泌量及骨愈合影响的实验研究. *中华创伤骨科杂志*, 2013, 15(10): 884-888.
- 30 Issa JP, Nascimento C, Lamano T, *et al.* Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on bone formation in the acute distraction osteogenesis of rat mandibles. *Clin Oral Implants Res*, 2009, 20(11): 1286-1292.

收稿日期: 2017-01-16 修回日期: 2017-04-27

本文编辑: 王雁