

# 前列腺素 E<sub>2</sub> 与地塞米松诱导 BMSCs 成骨过程的对比研究

邓思远<sup>1</sup>, 龙宇飞<sup>1</sup>, 李劫若<sup>2</sup>, 曾坤青<sup>3</sup>, 林明亮<sup>3</sup>

1. 广州市花都区花东镇中心卫生院, 广东 广州 510890; 2. 暨南大学附属第一医院, 广东 广州 510630;  
3. 广州市天河区人民医院, 广东 广州 510660

**摘要:** **目的** 比较前列腺素 E<sub>2</sub> 与地塞米松诱导促进骨髓间充质干细胞(BMSCs)骨向分化作用及其临床应用。**方法** 2011 年 10 月至 2013 年 10 月收治的 50 例腿骨骨折患者, 随机分为观察组、对照组两组, 每组 25 例。两组患者均予骨髓穿刺各取出 10 ml 骨髓, 离心法分离出有核细胞, 置入 7.5% 胎牛血清(FBS)培养基中, 在 5% CO<sub>2</sub>、37 °C 条件下培养 12 h, 弃掉未贴壁细胞, 仅保留贴壁细胞。其后, 观察组与对照组分别采用经前列腺素 E<sub>2</sub>、地塞米松诱导分化后的自体 BMSCs 骨折处局部注射。比较两组的骨折愈合情况。**结果** 两组患者骨折均全部愈合, 均无并发症发生。观察组骨折平均愈合时间(55.4 ± 14.4) d, 对照组骨折平均愈合时间(65.9 ± 13.7) d, 两组愈合时间比较差异有统计学意义( $t = 2.650, P < 0.05$ )。两组局部注射经过诱导分化的 BMSCs 均未出现局部及全身不良反应。**结论** 前列腺素 E<sub>2</sub> 具有更好增殖和诱导分化 BMSCs 的作用。

**关键词:** 前列腺素 E<sub>2</sub>; 骨髓间充质干细胞; 骨向分化; 成骨细胞; 骨折

**中图分类号:** R 681.8 R 329.2 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674 - 8182(2015)07 - 0896 - 02

临床上骨损伤有多种骨修复材料如自体骨、异体骨、生物材料等<sup>[1]</sup>, 由于骨组织的修复时间漫长, 对如何人为控制诱导组织干细胞骨分化加速骨损伤愈合成为研究热点<sup>[2-3]</sup>。骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)是研究较多的组织干细胞。如何使 BMSCs 定向往人们期望的方向分化, 是众多试验的研究目的<sup>[4]</sup>。本研究比较前列腺素 E<sub>2</sub> 及地塞米松作用下诱导 BMSCs 定向骨分化对加速骨折愈合过程的影响。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2011 年 10 月至 2013 年 10 月本院共收治 50 例腿骨闭合性裂缝骨折患者。将其随机分为两组: 对照组 25 例, 男 21 例, 女 4 例; 年龄(32.3 ± 4.7)岁; 采用外科骨折固定自然愈合治疗。观察组 25 例, 男 20 例, 女 5 例; 年龄(30.3 ± 5.2)岁; 在固定基础上加用前列腺素 E<sub>2</sub> 及地塞米松。两组性别、年龄差异无统计学意义( $P$  均 > 0.05), 具有可比性。

**1.2 纳入标准** (1) 必须要手术植入钢板的腿骨闭合性裂缝骨折患者; (2) 排除了糖尿病等代谢病以及骨髓增生异常综合征等骨髓异常的血液系统疾病; (3) 签署本治疗的知情同意书者。

**1.3 排除标准** (1) 非闭合性裂缝骨折患者或者是其他部位骨折患者; (2) 不能排除糖尿病等代谢病以及骨髓增生异常综合征等骨髓异常的血液系统疾病; (3) 精神异常及不愿合作者;

**1.4 方法** 作者之前研究已证实, 前列腺素 E<sub>2</sub> 对 BMSCs 具有增殖和诱导骨向分化的能力, 浓度在  $1 \times 10^{-4}$  g/L 的时候能最佳促进增殖, 浓度在  $1 \times 10^{-5}$  g/L 时能最佳促进骨向分化<sup>[5]</sup>; 而地塞米松也是 BMSCs 骨向分化的诱导剂。本研究通过 BMSCs 体外增殖、诱导分化, 然后将分化后的产物回注给患者, 观察其对患者骨折是否有加速愈合的效果。两组患者均予骨穿各取出 10 ml 骨髓, 离心法分离出有核细胞, 置入 7.5% 胎牛血清(FBS)培养基中, 在 5% CO<sub>2</sub>、37 °C 条件下培养 12 h, 弃掉未贴壁细胞, 仅保留贴壁细胞, 然后按研究目的进行分组试验。在观察组 BMSCs 培养基里加入  $1 \times 10^{-5}$  g/L 的前列腺素 E<sub>2</sub>; 在对照组 BMSCs 培养基里加入地塞米松 2 μl。每 3 天换液 1 次, 培养 7 d 后将得到的贴壁细胞自体注射入骨折处。观察两组骨折愈合情况。

**1.5 疗效判定** 治疗效果的判断, 成人正常骨折愈合时间为 3 个月以上, 本研究比较两组的骨折愈合时间。根据第八版《外科学》骨折愈合标准: (1) 骨折处局部无压痛及纵向叩击痛; (2) 局部活动无异常; (3) DR 提示骨折部位骨折线消失; (4) 下肢骨折患者不扶拐杖能平地徒步 3 min 以上并且行走步数不少

于 30 步; (5) 连续观察 2 周骨折处不变形。记录从患者骨折至治愈时间, 时间越短, 表明骨生长越快, 间接反映出成骨细胞数量。

1.6 统计学方法 运用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用独立样本  $t$  检验; 计数资料采用  $\chi^2$  检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

两组患者骨折均全部愈合, 均无并发症发生。观察组骨折平均愈合时间  $(55.4 \pm 14.4)$  d, 对照组骨折平均愈合时间  $(65.9 \pm 13.7)$  d, 两组比较差异有统计学意义  $(t = 2.650, P < 0.05)$ 。两组局部注射经过诱导分化的 BMSCs 均未出现局部及全身不良反应。

## 3 讨论

骨在发育、形成过程中有两种。一种是膜内化骨, 主要发生在部分的顶骨、颅底、面骨、锁骨, 其过程主要由骨髓间充质细胞完成, BMSCs 分化为成骨细胞, 成骨细胞产生骨基质并被包埋在基质中, 成骨细胞逐渐转化为骨细胞, 同时骨基质发生矿化形成骨小梁, 最终骨化完成。另一种是软骨内化骨, 主要发生在四肢、脊柱、骨盆和部分颅骨, 其过程是间充质细胞聚集成团, 分化为软骨, 形成软骨雏形, 初级骨化中心出现骨领, 血管长入, 骨髓腔形成; 接着次级骨化中心出现, 骺板形成, 最后骨增长、增粗并重建, 骨化完成。在骨的发育、形成过程中骨髓间充质细胞起重要作用。BMSCs 在骨髓的含量很低, 约为 0.001% 到 0.01%, 所以如果要利用它就必须先将其体外分离培养及扩增<sup>[6]</sup>, 再用诱导的方法促进它的分化方向, 从而获得大量的成骨细胞, 能提高骨的愈合速度。目前对 BMSCs 的研究很多, 不仅仅是对骨向分化的研究<sup>[7-8]</sup>, 还有在治疗肝病<sup>[9]</sup>、神经损伤<sup>[10]</sup>、心肌损伤<sup>[11-12]</sup>、血液系统疾病<sup>[13]</sup>等方面的研究, 这些都是基于 BMSCs 强大的增殖能力和分化潜能, 如果能够找到高效安全的方法来利用好 BMSCs 的特性, 对一些疾病的治疗将有重要的临床意义。

本研究从安全性角度考虑, 因为患者所采用的是自体细胞, 能将免疫反应性降低甚至消失。由于 BMSCs 的数量太少, 如不体外增殖、提纯, 数量太少无法起治疗作用。本研究中经过培养、诱导分化后的 BMSCs 分化的细胞, 明显促进了骨的愈合速度, 前列

腺素 E<sub>2</sub> 的促进作用较地塞米松更明显。在动物试验中, 前列腺素 E<sub>2</sub> 有着增殖和诱导分化双重效果。而地塞米松作为一种常用的激素类抗炎药, 其长期使用有一定副作用。因此, 前列腺素 E<sub>2</sub> 比地塞米松更适合作为诱导剂, 且其廉价、安全。

综上所述, 前列腺素 E<sub>2</sub> 具有增殖和诱导分化 BMSCs 的作用, 其效果明显, 安全。

## 参考文献

- [1] 王迎军, 杜昶, 赵娜如, 等. 仿生人工骨修复材料研究[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2012, 40(10): 51-58.
- [2] 高丽娜, 安莹, 杨昊, 等. 氯化锂对人颌骨来源的骨髓间充质干细胞增殖及骨向分化能力的影响[J]. 实用口腔医学杂志, 2013, 29(2): 203-208.
- [3] 张永强, 杨自权, 卫小春, 等. 骨髓间充质干细胞成软骨分化的影响因素研究进展[J]. 中华实验外科杂志, 2011, 28(7): 1193-1194.
- [4] 吕玉明, 程立明, 裴国献, 等. 骨髓间充质干细胞向成骨细胞诱导分化的实验研究[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(9): 1401-1404.
- [5] 李劫若, 邓思远, 侯辉歌, 等. 前列腺素 E<sub>2</sub> 调控骨髓间充质干细胞成骨分化最佳浓度及其效应基因[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(14): 2147-2152.
- [6] 胡彬, 刘晓华, 赵林, 等. 骨髓间充质干细胞的分离培养与鉴定[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(27): 5108-5111.
- [7] 史跃, 尹文洲, 陈启忠, 等. 自体骨髓间充质干细胞动脉灌注联合局部注射治疗股骨头坏死[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(6): 1065-1069.
- [8] 师彬, 杨武斌, 王平, 等. 骨髓间充质干细胞诱导分化成骨细胞的研究现状[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(19): 228-231.
- [9] 储建, 杭化莲, 禹亚彬, 等. 骨髓间充质干细胞在肝脏疾病治疗中的应用[J]. 中华肝胆外科杂志, 2012, 18(7): 564-566.
- [10] 刘振东, 王静成, 杨建东, 等. 骨髓间充质干细胞向神经细胞分化的相关信号通路研究现状[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(6): 1111-1114.
- [11] 王晓, 甄雷, 缪黄泰, 等. 经冠状静脉逆行灌注碱性成纤维细胞生长因子对骨髓间充质干细胞体内分化的影响[J]. 中国组织工程研究, 2014(37): 5916-5922.
- [12] 田茂, 朴海南, 陈宇, 等. 骨髓间充质干细胞体外构建工程化心肌组织的生存[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(20): 3133-3138.
- [13] 黄颖, 郑翠玲, 杨少光, 等. 骨髓间充质干细胞对免疫介导再生障碍性贫血的治疗[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(1): 41-45.

收稿日期: 2015-02-26 修回日期: 2015-03-16 编辑: 王国品