编者按　人类健康离不开骨骼的健康。成人的骨骼由 206 块骨组成,骨与骨之间由关节和韧带连接起来。骨骼是人体最坚硬的器官,起到支撑、运动、保护身体的作用,同时还承担着部分造血功能和储藏矿物质的功能。骨骼的组成包括骨骼组织、骨髓、骨膜、神经、血管和软骨。常见的骨骼疾病包括关节炎、骨质疏松、骨损伤等。本期“特别关注”和“医学前沿”栏目聚焦骨骼健康、骨损伤与修复的相关研究进展,重点关注骨膜蛋白在组织修复中的作用研究进展、关节软骨与软骨下骨病变的研究进展、力学刺激促进软骨修复的研究进展等内容,旨在分享相关的临床经验和最新的研究进展,提高全生命周期的骨骼健康意识,加强骨骼健康防治宣传教育,助力健康中国行动。

骨膜蛋白在组织修复中的作用研究进展

张　勇　秦　晗

摘　要　骨膜蛋白是一种细胞外基质(extracellular matrix,ECM)蛋白,表达于胚胎发育阶段和成年机体的多种组织中,在损伤组织中具有促进牙骨质形成、激活成骨细胞、加速形成新生毛细血管、促进牙周韧带(periodontal ligament,PDL)形成的作用,现就骨膜蛋白在组织修复方面的作用进行综述。

关键词　骨膜蛋白　骨重塑　牙骨质　PDL　组织修复

中图分类号　R34　　**文献标识码**　A　　**DOI**　10.11969/j.issn.1673-548X.2023.05.002

骨膜蛋白最早是在 1993 年于小鼠前成骨细胞中发现的,称为成骨细胞特异性因子 2,后来的研究中发现人体组织也存在此物质,与小鼠高度同源,同时该蛋白在骨膜中表达水平高,因此被命名为骨膜蛋白[1]。骨膜蛋白作为一种 ECM 蛋白能够与干细胞结合,在发育和修复的过程发挥重要作用[2]。最早发现于成骨细胞、骨膜、牙周膜等间充质细胞系中,间充质细胞系的细胞具有干细胞自我更新和多向分化的能力,在间充质细胞增殖分化期间,骨膜蛋白的含量增高,提示骨膜蛋白在细胞分化和新生方面的作用[3,4]。Georgia 等[5]研究发现,骨膜蛋白在皮肤黏膜损伤中刺激基底层细胞,促进伤口愈合。骨膜蛋白增强血管内皮生长因子促进形成新生血管,骨膜蛋白在骨重塑过程中激活成骨细胞,提示了骨膜蛋白对各类组织重建方面的作用[6,7]。故本文对骨膜蛋白对组织修复的作用进行综述。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81500893)
作者单位:222002　南京医科大学连云港临床医学院
通信作者:秦晗,电子信箱:qinhan@njmu.edu.cn

一、骨膜蛋白与骨重塑

成骨细胞是由来自于骨膜和骨髓基质中的间充质细胞分化而来,在骨形成和重建过程中起重要作用[8]。Soon 等[9]研究发现,间充质干细胞可分化为成骨细胞促进骨重塑,另一方面还发现骨膜蛋白可以加速间充质细胞介导的骨愈合,因此研究人员通过将骨膜蛋白和充质干细胞联合移植到骨折部位发现较仅移植干细胞到骨折部位,联合移植组的骨折愈合速度加快,提示骨膜蛋白在加快骨折愈合方面有积极作用。Merle 等[7]研究发现,成骨细胞分化过程中骨膜蛋白的表达在分化结束时增加了 1.25 ~ 3.00 倍,结合成骨细胞在形成新骨方面的作用,提示骨膜蛋白在骨重塑过程中起作用。Cai 等[10]研究发现,骨膜蛋白和骨重塑过程中相关基因 Runx2、RANKL 也密切相关,Runx2 和 RANKL 相互作用调控骨代谢,骨膜蛋白低表达会导致 Runx2 的低表达,Runx2 低表达延缓骨折愈合,提示骨膜蛋白会促进骨折的愈合。Yin 等[6]通过分析骨膜蛋白过表达后前成骨细胞的 RNA 图谱,提示骨膜蛋白与骨重塑细胞黏附和迁移以及骨代谢基因相关。Orange 等[11]研究发现,骨膜蛋白缺乏

的骨膜不能重建骨膜细胞池,也就是不能实现骨损伤后的膜内成骨,提示骨膜蛋白是骨膜中骨骼干细胞的关键调节剂。针对于骨膜蛋白与牙槽骨方面的研究发现,骨膜蛋白对牙槽骨再生的作用于区域的炎性环境的变化有关,这提示骨膜蛋白对于牙槽骨再生是有一定可能的[12]。这些研究一方面表明了骨膜蛋白与骨重塑基因存在正相关,另一方面无论是外伤还是炎症导致的骨损伤,骨膜蛋白都有一定促进骨重塑的功能。

二、骨膜蛋白与皮肤黏膜修复

皮肤的伤口愈合过程包括止血、炎症发生、细胞增殖和屏障功能重塑[13,14]。Walker 等[15]独立分析了骨膜蛋白基因敲除和野生型小鼠的伤口处的骨膜蛋白含量,发现基因敲除小鼠伤口在伤后较野生型小鼠闭合减少。Zhou 等[4]研究发现,发育过程中骨膜蛋白在真皮 - 表皮交界处表达,在伤口处,骨膜蛋白同发育过程中的皮肤一样在伤口边缘的真皮 - 表皮交界处重新表达,促进愈合,在连接处的高度表达提示了骨膜蛋白在基膜处的生物学功能,基膜处的基底层细胞是生发层,具有增殖分化能力,提示骨膜蛋白参与皮肤损伤后形态和功能的重建。Elliott 等[18]研究发现,用骨膜蛋白/胶原蛋白处理的全层皮肤伤口比不处理和仅用胶原蛋白处理的全层皮肤伤口的闭合率高,提示骨膜蛋白促进皮肤伤口闭合。研究表明,骨膜蛋白在皮肤伤口处含量增高,皮肤损伤后骨膜蛋白诱导成纤维细胞活化,启动成纤维细胞的迁移活动,活化的成纤维细胞促进炎症期间形成的肉芽组织上皮化,从而逐渐闭合创面,重建皮肤的屏障功能[16,17]。

黏膜和皮肤一般被认为是同源的组织。与骨膜蛋白通过促进成纤维细胞分化来帮助皮肤损伤愈合不同,骨膜蛋白是通过促进细胞外基质的形成来加快黏膜损伤的愈合[19]。Kim 等[20]通过设计大鼠的牙龈切除模型,发现骨膜蛋白的表达在伤后第 3 天上调,并在第 14 天时达到峰值,且未在愈合过程中发现肌成纤维细胞,仅观察到细胞外基质的合成,提示骨膜蛋白加快了黏膜的愈合。

三、骨膜蛋白与血管再生

Soon 等[9]研究发现,间充质干细胞和骨膜蛋白均可加速缺血组织的修复,共同植入促进血管新生,提示了骨膜蛋白刺激了间充质干细胞介导的血管生成。Zohaib 等[21]在体内的研究提出骨膜蛋白是血管生成过程中的重要贡献者,骨膜蛋白通过增强血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase 2, MMP2),促进血管生成。VEGF 是一种特异性的能促进内皮细胞的因子,VEGF 有多种形式,其中 VEGF - A 能促进形成新生血管,增加血管通透性,VEGF - E 是潜在的新生血管形成因子[22]。实验证明,VEGF 促进血管内皮细胞生长和诱导血管增生。VEGF 诱导胶原酶、组织因子等在血管内皮细胞,激发能够改变 ECM 结构的 V3 因子释放,从而使 ECM 更易于血管生长。MMP2 属于能够切分 ECM 的基质金属蛋白酶,此蛋白酶能够调节血管化。Watanabe 等[23]在两组细胞中分别置 1μg/ml 骨膜蛋白和不做处理,12h 后发现骨膜蛋白处理的 PDL 细胞组中的 MMP2、VEGF 分别较未处理的增加了 1.7 倍和 1.8 倍。有研究在测定用骨膜蛋白处理的体外组织的新生血管发现,骨膜蛋白能够促进毛细血管的形成[6]。综合骨膜蛋白对 MMP2、VEGF 的作用及 MMP2、VEGF 对新生血管的作用,提示骨膜蛋白在形成新生血管中有促进作用。

四、骨膜蛋白与牙周组织再生

牙周韧带(periodontal ligament, PDL)是围绕牙根连接牙体组织和牙槽骨的致密结缔组织。PDL 分为靠近牙槽骨一侧血管丰富的不可移动区和靠近牙齿一侧无血管的可移动区,不可移动区和可移动区之间的部分被称为剪切带。Kill 等[24]通过研究小鼠牙萌出形成 PDL 的时期对骨膜蛋白的免疫组织学定位,发现在牙周韧带的剪切区骨膜蛋白的免疫强阳性,同时剪切带是形成胶原蛋白的重要区域,提示骨膜蛋白对 PDL 形成的作用。前述提到骨膜蛋白处理的 MMP2、VEGF 水平会增加,该研究还发现 MMP2 和 VEGF 与 PDL 细胞增殖密切相关,提示骨膜蛋白与 PDL 再生相关。Padial 等[25]设计了一项体外实验研究,通过让 PDL 细胞分别在对照组、骨膜蛋白、成纤维细胞增殖因子中培养,分析各组培养细胞中阳性细胞数,发现骨膜蛋白培养组的 PDL 细胞明显增加了 2 倍,此外,该研究还通过划痕分析发现骨膜蛋白会增加细胞迁移,综合骨膜蛋白在 PDL 细胞增殖和细胞迁移中的作用,提示骨膜蛋白促进 PDL 的再生。Choi 等[26]研究发现,PDL 骨膜蛋白含量下降时,组织学发现胶原纤维的网状结构丧失,PDL 纤维的数量、PDL 纤维厚度降低,表明骨膜蛋白参与了 PDL 的形成。

骨膜蛋白具有调节组织细胞迁移、募集、黏附、增殖、附着到各种组织的愈合区域,其中促进成纤维细

胞迁移、附着的功能,提示骨膜蛋白在 PDL 重塑过程中发挥作用。Panchamanon 等[27]研究发现,PDL 再生对机械力生物反应与力的大小关系密切,在机械力下维持牙周稳态,而骨膜蛋白在此过程中是作为机械力传导的调节剂,提示在合适机械力条件下骨膜蛋白对 PDL 再生有促进作用。

牙骨质是一种结缔组织,是覆盖于牙根表面的硬组织,色淡黄,牙骨质既是牙体组织也是牙周组织,同时牙骨质也是维系牙和牙周组织的重要结构。一直以来,人们认为牙骨质的再生是十分困难的,Liu 等[28,29]研究认为,存在于 PDL、牙龈、牙槽骨中的干细胞具有能够分化为成牙骨质细胞的能力,形成牙骨质样组织,有能够分化为牙骨质的干细胞存在,为牙骨质再生提供了可能。Rios 等[30]分别用两组实验小鼠,其中实验组设计为骨膜蛋白基因敲除小鼠,对照组为野生型小鼠,在光镜下观察两组小鼠的牙周组织,镜下观察到骨膜蛋白基因敲除组小鼠牙周组织的 PDL 与根面分离,且未在根面发现成牙骨质细胞,而在野生型的小鼠牙周组织切片中观察到根面的成牙骨质细胞,该研究验证了骨膜蛋白促进成牙骨质细胞募集到根面上,提示骨膜蛋白对牙骨质的形成至关重要。

综上所述,骨膜蛋白已经被广泛用于皮肤损伤、骨损伤以及某些病例的牙周组织的修复[5]。但是多项研究显示,骨膜蛋白对于牙周组织修复的效果不确切,主要是由于炎性水平的变化导致骨膜蛋白表达水平不稳定,综合上述所提到的骨膜蛋白在骨组织、牙周膜、牙骨质、牙龈等部位的修复作用,这表明骨膜蛋白是对所有牙周组织组分实现修复的能力的,因此对于牙周病和涉及全部牙周组织组分损伤的牙齿根折等疾病有希望能够通过研究骨膜蛋白的作用去实现这些疾病的治疗,从而修复损伤的相关组织,达到理想的愈合效果。

参考文献

1 Conway S, Izuhara K, Kudo Y, *et al*. The role of periostin in tissue remodeling across health and disease [J]. Cell Mol Sci, 2014, 71: 1279 – 1288

2 Suresh A, Biswas A, Perumal S, *et al*. Periostin and integrin signaling in stem cell regulation [J]. Adv Exp Med Biol, 2019, 1132: 163 – 176

3 Saad EHM, Abdel – Aziz HO, Sayed D, *et al*. Periostin expression and characters of human adipose tissue – derived mesenchymal stromal cells were aberrantly affected by in vitro cultivation [J]. Stem Cell Investig, 2019, 6: 33

4 Zhou HM, Wang J, Elliott C, *et al*. Spatiotemporal expression of periostin during skin development and incisional wound healing: lessons for human fibrotic scar formation [J]. J Cell Commun Signal, 2010, 4(2): 99 – 107

5 Nikoloudaki G, Creber K, Hamilton DW. Wound healing and fibrosis: a contrasting role for periostin in skin and the oral mucosa [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2020, 318(6): 1065 – 1077

6 Yin SL, Qin ZL, Yang X. Role of periostin in skin wound healing and pathologic scar formation [J]. Chin Med J (Engl), 2020, 133 (18): 2236 – 2238

7 Merle B, Bouet G, Rousseau JC, *et al*. Periostin and transforming growth factor beta – induced protein (TGFbetaIp) are both expressed by osteoblasts and osteoclasts [J]. Cell Biol Int, 2014, 38(3): 398 – 404

8 Garg P, Mazur MM, Buck AC, *et al*. Ebraheim NA. Prospective review of mesenchymal stem cells differentiation into osteoblasts [J]. Orthop Surg, 2017, 9(1): 13 – 19

9 Heo SC, Shin WC, Lee MJ, *et al*. Periostin accelerates bone healing mediated by human mesenchymal stem cell – embedded hydroxyapatite/tricalcium phosphate scaffold [J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0116698

10 Cai J, Qin H, Yu G. Effect of periostin silencing on Runx2, RANKL and OPG expression in osteoblasts [J]. J Orofac Orthop, 2021, 82(2): 82 – 91

11 Duchamp DLO, Julien A, Abou R, *et al*. Periosteum contains skeletal stem cells with high bone regenerative potential controlled by periostin [J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 773

12 Liu Q, Huang P, Guo SJ. Progress relationship between periostin and periodontitis [J]. Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi, 2018, 36 (6): 681 – 685

13 Karamanos NK, Theocharis AD, Neill T, *et al*. Matrix modeling and remodeling: a biological interplay regulating tissue homeostasis and diseases [J]. Matrix Biol, 2019, 75: 1 – 11

14 Nikoloudaki G, Snider P, Simmons O, *et al*. Periostin and matrix stiffness combine to regulate myofibroblast differentiation and fibronectin synthesis during palatal healing [J]. Matrix Biol, 2020, 94: 31 – 56

15 Walker JT, McLeod K, Kim S, *et al*. Periostin as a multifunctional modulator of the wound healing response [J]. Cell Tissue Res, 2016, 365(3): 453 – 465

16 Cobo T, Viloria CG, Solares L, *et al*. Role of periostin in adhesion and migration of bone remodeling cells [J]. PLoS One, 2016, 11 (1): e0147837

17 Ontsuka K, Kotobuki Y, Shiraishi H, *et al*. Periostin, a matricellular protein, accelerates cutaneous wound repair by activating dermal fibroblasts [J]. Experimental Dermatology, 2012, 21(5): 331 – 336

18 Elliott CG, Wang J, Walker JT, *et al*. Periostin and CCN2 scaffolds promote the wound healing response in the skin of diabetic mice [J]. Tissue Engineering Part A, 2018, 25(17 – 18): 1326 – 1339

19 Kim SS, Nikoloudaki GE, Michelsons S, *et al*. Fibronectin synthesis, but not α – smooth muscle expression, is regulated by periostin in gingival healing through FAK/JNK signaling [J]. Sci Rep, 2019, 9 (1): 2708

(下转第 43 页)

sion in R_2 relaxometry with MRI for the quantification of tissue iron overload in beta - thalassemic patients[J]. Magn Reson Imaging, 2012, 30(7): 926 - 933

8 Hayashi, T, Fukuzawa K, Yamazaki H, *et al*. Multicenter, multivendor phantom study to validate proton density fat fraction and T_2^* values calculated using vendor - provided 6 - point DIXON methods [J]. Clin Imaging, 2018, 51: 38 - 42

9 Kühn JP, Hernando D, Rio AM, *et al*. Effect of multipeak spectral modeling of fat for liver iron and fat quantification: correlation of biopsy with MR imaging results[J]. Radiology, 2012, 265(1): 133 - 142

10 Karlsson M, Ekstedt M, Dahlström N, *et al*. Liver R_2^* is affected by both iron and fat: a dual biopsy - validated study of chronic liver disease[J]. J Magn Reson Imaging, 2019, 50(1): 325 - 333

11 刘娜, 张浩南, 张煜堃, 等. 磁共振 IDEAL - IQ 与 mDixon Quant 技术对腹部、椎体脂肪定量的对比分析[J]. 磁共振成像, 2022, 13(3): 49 - 53

12 宋彬, 叶铮, 魏毅, 等. 肝脏脂肪变性的磁共振影像定量分析: 新技术方法与临床应用[J]. 西部医学, 2020, 32(4): 489 - 491, 495

13 熊晓晴, 林绮婷, 司徒定坤, 等. 磁共振水脂分离新技术 IDEAL - IQ 的应用[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2020, 41(5): 427 - 433

14 张英魁, 黎丽, 李金锋. 实用磁共振成像原理与技术解读[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2021: 221

15 刘春英, 刘莲花, 王志刚, 等. MR mDixon - Quant 技术在肥胖儿童青少年非酒精性脂肪性肝病诊断中的应用[J]. 实用放射学杂志, 2021, 37(4): 579 - 582

16 Caussy C, Reeder SB, Sirlin CB, *et al*. Noninvasive, quantitative assessment of liver fat by MRI - PDFF as an endpoint in NASH trials [J]. Hepatology, 2018, 68(2): 763 - 772

17 Kukuk GM, Hittatiya K, Sprinkart AM, *et al*. Comparison between modified Dixon MRI techniques, MR spectroscopic relaxometry, and different histologic quantification methods in the assessment of hepatic steatosis[J]. Eur Radiol, 2015, 25(10): 2869 - 2879

18 Permutt Z, Le TA, Peterson MR, *et al*. Correlation between liver histology and novel magnetic resonance imaging in adult patients with non - alcoholic fatty liver disease - MRI accurately quantifies hepatic steatosis in NAFLD[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2012, 36(1): 22 - 29

19 Serai SD, Dillman JR, Trout AT. Proton density fat fraction measurements at 1. 5 - and 3 - T hepatic MR imaging: same - day agreement among readers and across two imager manufacturers[J]. Radiology, 2017, 284(1): 244 - 254

20 Kim TH, Jeong CW, Jun HY, *et al*. Noninvasive differential diagnosis of liver iron contents in nonalcoholic steatohepatitis and simple steatosis using multiecho dixon magnetic resonance imaging[J]. Acad Radiol, 2019, 26(6): 766 - 774

21 吴巧玲, 张晓琦, 倪红艳, 等. 水脂分离定量技术 mDIXON - Quant 序列检测输血依赖性疾病肝脏和胰腺铁沉积的应用价值[J]. 中华放射学杂志, 2019, 53(6): 470 - 474

(收稿日期: 2022 - 09 - 02)
(修回日期: 2022 - 09 - 29)

(上接第 7 页)

20 Shawn SK, Georgia EN, Sarah M, *et al*. Fibronectin synthesis, but not α - smooth muscle expression, is regulated by periostin in gingival healing through FAK/JNK signaling[J]. Scientific Reports, 2019, 9: 2708

21 Khurshid Z, Mali M, Adanir N, *et al*. Periostin: immunomodulatory effects on oral diseases [J]. Eur J Dent, 2020, 14(3): 462 - 466

22 Peach CJ, Mignone VW, Arruda MA, *et al*. Molecular pharmacology of VEGF - A isoforms: binding and signalling at VEGFR2 [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(4): 1264 - 1291

23 Watanabe T, Yasue A, Fujihara S, *et al*. Periostin regulates MMP - 2 expression via the αvβ3 integrin/ERK pathway in human periodontal ligament cells [J]. Archives of Oral Biology, 2012, 57(1): 52 - 59

24 Kii I, Amizuka N, Minqi L, *et al*. Periostin is an extracellular matrix protein required for eruption of incisors in mice [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2006, 342(3): 766 - 772

25 Padial M, Volk SL, Rios HF. Periostin increases migration and proliferation of human periodontal ligament fibroblasts challenged by tumor necrosis factor - α and Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharides [J]. J Periodontal Res, 2014, 49(3): 405 - 414

26 Choi JW, Arai C, Ishikawa M, *et al*. Fiber system degradation, and periostin and connective tissue growth factor level reduction, in the periodontal ligament of teeth in the absence of masticatory load [J]. J Periodontal Res, 2011, 46(5): 513 - 521

27 Panchamanon P, Pavasant P, Leethanakul C. Periostin plays role in force - induced stem cell potential by periodontal ligament stem cells [J]. Cell Biol Int, 2019, 43(5): 506 - 515

28 Liu J, Ruan J, Weir MD, *et al*. Periodontal bone - ligament - cementum regeneration via scaffolds and stem cells [J]. Cells, 2019, 8(6): 537

29 Lemaitre M, Monsarrat P, Blasco V, *et al*. Periodontal tissue regeneration using syngeneic adipose - derived stromal cells in a mouse model [J]. Stem Cells Transl Med, 2017, 6(2): 656 - 665

30 Rios HF, Ma D, Xie Y, *et al*. Periostin is essential for the integrity and function of the periodontal ligament during occlusal loading in mice [J]. J Periodontol, 2008, 79(8): 1480 - 1490

(收稿日期:2022 - 05 - 22)
(修回日期:2022 - 05 - 30)