



TGF- β 1/OP-1 基因修饰骨髓间充质干细胞对退变椎间盘的影响

姜 鑫

齐齐哈尔医学院附属第三医院 161000

摘要：目的：观察腺病毒介导的 TGF- β 1/OP-1 联合基因修饰兔骨髓间充质干细胞并移植兔退变椎间盘后，对骨髓间充质干细胞合成 II 型胶原和蛋白聚糖的影响。**方法：**采用体外细胞培养、纯化兔骨髓间充质干细胞，造模成功后将 80 只兔随机分为 4 个组：A 组将 Ad-TGF- β 1 基因修饰骨髓间充质干细胞培养，B 组将 Ad-OP-1 基因修饰骨髓间充质干细胞培养，C 组将 Ad-TGF- β 1/Ad-OP-1 联合基因修饰骨髓间充质干细胞培养，空白对照组（D 组）将腺病毒转染骨髓间充质干细胞培养。并将培养的各类骨髓间充质干细胞分别植入退变的椎间盘，术后定期（1、2、4、8、12 周）核磁共振等影像学检查，免疫组化法检测椎间盘内 II 型胶原和蛋白聚糖的表达。**结果：**核磁共振显示：与 D 组比较，A、B、C 三组 T2 信号在不同时间段开始保持平稳，但 C 组从第 1 周开始 T2 信号就开始保持平稳，而对照组继续减弱（ $P<0.05$ ）。实验指标显示：C 组表达的 II 型胶原和蛋白聚糖水平也最高（ $P<0.05$ ）。**结论：**TGF- β 1/OP-1 联合基因修饰骨髓间充质干细胞后，移植退变椎间盘，可使髓核组织中 II 型胶原和蛋白聚糖的含量增加，并且具有修复退变椎间盘的作用。

关键词：TGF- β 1；OP-1；骨髓间充质干细胞；退变椎间盘

中图分类号：R256.12

文献标识码：A

文章编号：1009-5187 (2018) 06-071-01

由椎间盘退变引起的颈肩痛、腰腿痛在临床上十分常见。椎间盘退变组织学上典型的特征是细胞减少且功能退化，髓核脱水，合成蛋白聚糖和 II 型胶原蛋白能力减弱[1]。研究发现自体骨髓间充质干细胞再植入椎间盘可延缓椎间盘退变[2]。骨髓间充质干细胞（Bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs）是一种具有自我更新、分化增殖和多向分化潜能的干细胞，故被认为是最有希望的种子细胞来源之一。转化生长因子 β 1（TGF- β 1）具有多重生物学效应，它不仅是调控骨髓间充质干细胞增殖和向成软骨方向定向分化的主要生长因子之一，而且可抑制多种炎症介质的生物学活性，使同种异体细胞移植更为安全[3]。而成骨蛋白（OP-1），具有较强的成骨活性，临床中常用来治疗椎间盘融合和骨延迟愈合。本研究旨在观察 TGF- β 1/OP-1 联合修饰对骨髓间充质干细胞合成 II 型胶原和蛋白聚糖的影响，观察其对退变椎间盘的作用。现报道如下。

1. 资料与方法

1.1 临床资料

80 只兔均接受相同环境、相同饲养方式饲养，饲养室内温度控制 25℃ 左右。兔性别不限，体重为 1.5-2.0kg。兔一般资料无明显差异（ $P>0.05$ ），具有可比性。

1.2 方法

组别	1 周	2 周	4 周	8 周	12 周
A 组	0.80±0.053	0.76±0.052	0.74±0.058	0.77±0.047	0.82±0.068
B 组	0.81±0.054	0.77±0.057	0.72±0.051	0.76±0.046	0.83±0.059
C 组	0.84±0.066	0.82±0.059	0.83±0.061	0.86±0.051	0.88±0.069
D 组	0.79±0.064	0.72±0.067	0.67±0.055	0.61±0.054	0.57±0.048

表 2 各组椎间盘内蛋白聚糖含量测定对比

组别	1 周	2 周	4 周	8 周	12 周
A 组	3.52±0.133	3.67±0.110	3.93±0.143	4.16±0.144	4.47±0.145
B 组	3.54±0.124	3.68±0.109	3.89±0.137	4.11±0.149	4.44±0.152
C 组	3.68±0.126	3.82±0.116	4.03±0.161	4.36±0.154	4.78±0.169
D 组	3.50±0.108	3.41±0.113	3.26±0.106	3.20±0.114	3.13±0.121

表 3 各组椎间盘内 II 型胶原含量对比

组别	1 周	2 周	4 周	8 周	12 周
A 组	138.4±2.04	139.3±2.12	140.2±2.08	142.3±2.33	142.6±2.17
B 组	138.2±2.16	138.8±2.19	139.6±2.22	141.1±2.15	141.8±2.16
C 组	140.1±2.31	141.3±2.27	143.2±2.38	147.6±2.14	148.2±2.40
D 组	138.5±2.67	134.4±2.41	128.2±2.26	121.6±2.13	114.5±2.44

3. 讨论

本研究证实了兔骨髓间充质干细胞体外诱导分化为具有生物活性的类髓核细胞的可行性，TGF- β 1/OP-1 联合基因修饰骨髓间充质干细胞后，诱导其向类髓核细胞分化，协同促进细胞外蛋白聚糖和 II 型胶原的表达，达到修复退变椎间盘的作用。这对椎间盘退变的患者治疗具有重要意义。

参考文献

- [1] 周少怀, 范明宇, 方红育, 李宏亮. 壳聚糖负载 TGF- β 1 基因修饰骨髓间充质干细胞修复兔关节软骨缺损的实验研究[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2015, 12(06): 37-40.
- [2] 陈剑平. Ad-hBMP-2 和 Ad-hTGF- β 1 基因共转染骨髓间充质干细胞移植修复骨缺损的实验研究[D]. 福建医科大学, 2012. (03): 26-31.

将 80 只兔随机分为 4 个组，手术建立椎间盘 L3-4、L4-5、L5-s1 退变模型[4]：A 组将 Ad-TGF- β 1 基因修饰骨髓间充质干细胞培养，B 组将 Ad-OP-1 基因修饰骨髓间充质干细胞培养，C 组将 Ad-TGF- β 1/Ad-OP-1 联合基因修饰骨髓间充质干细胞培养，空白对照组（D 组）将腺病毒转染骨髓间充质干细胞培养。并将培养的各类骨髓间充质干细胞分别植入退变的椎间盘。

1.3 观察指标

术后定期（1、2、4、8、12 周）核磁共振检查，测量髓核 T2 值变化[5]，免疫组化法检测椎间盘内 II 型胶原和蛋白聚糖的表达。

1.4 统计学分析

采用 SPSS20.0 进行统计分析，采用 χ^2 检验，计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示，当 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2. 结果

兔腰椎间盘手术后 5 个时间点对比，MRI 检查示 A、B、C 三组 T2 信号在不同时间段开始保持平稳增强，但 C 组从第 1 周开始 T2 信号就开始保持平稳，而对照组继续减弱，差异有显著性意义（ $P<0.05$ ），详见表 1。C 组表达的 II 型胶原和蛋白聚糖水平在各个时期亦显著增高，差异具有统计学意义（ $P<0.05$ ），见表 2、3。

表 1 椎盘术后 T2 值变化比较（ $\bar{x} \pm s$, 分）

组别	1 周	2 周	4 周	8 周	12 周
A 组	0.80±0.053	0.76±0.052	0.74±0.058	0.77±0.047	0.82±0.068
B 组	0.81±0.054	0.77±0.057	0.72±0.051	0.76±0.046	0.83±0.059
C 组	0.84±0.066	0.82±0.059	0.83±0.061	0.86±0.051	0.88±0.069
D 组	0.79±0.064	0.72±0.067	0.67±0.055	0.61±0.054	0.57±0.048

[3] 陈金飞, 张允申, 马勇. 骨髓间充质干细胞在治疗关节软骨损伤组织工程方法中的研究进展[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2010, 18(02): 67-70.

[4] 王平, 顾煜琛, 高志惠, 孙铁锋, 杨武斌. 骨形态发生蛋白 7 转染骨髓间充质干细胞再生骨组织[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(23): 3609-3615.

[5] 赵鑫, 黄师, 张海龙, 白玉树, 石健, 赵新刚, 严宁, 侯铁胜. 人骨形成蛋白 7 基因转染骨髓间充质干细胞对兔退变椎间盘蛋白多糖的影响[J]. 中国临床解剖学杂志, 2008(04): 413-415.

齐齐哈尔市计划指导性项目：TGF- β 1/OP-1 基因修饰骨髓间充质干细胞对退变椎间盘的影响，项目编号：SFZD-2015037