

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.20.007

HGF 调控 β -catenin 信号通路对家兔股骨颈骨折修复的影响 *

史凡祺¹ 王媛媛² 郑 鑫¹ 刘世全¹ 甄瑞鑫¹

(1 承德医学院附属医院骨科 河北 承德 067000; 2 承德中心医院眼科 河北 承德 067000)

摘要 目的:探究 HGF 调控 β -catenin 信号通路对家兔股骨颈骨折修复的作用和影响机制。**方法:**15 只股骨颈骨折家兔动物模型随机分为半合成细胞外基质样水凝胶组(sECM 组)、sECM+HGF 组和脱钙骨基质组(DBM 组), 自体右侧作为实验侧, 左侧作为对照侧, 对比各组家兔一般情况、骨折愈合质量评分、骨痂最大载荷、挠度和刚度、BMSC 细胞中 BMP-2、TGF- β 1、PDGF、bFGF mRNA 表达水平和 COL-I、Wnt5a、 β -catenin 和 Lef-1 蛋白表达水平。**结果:**术后各周 sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧骨折愈合质量评分高于对照侧($P<0.05$), 且高于同期 sECM 组实验侧($P<0.05$)。术后 8 周, sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧骨痂最大荷载、挠度和刚度均优于对照侧($P<0.05$), 且优于 sECM 组实验侧($P<0.05$)。术后 2 周及 4 周, sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧 BMP-2、TGF- β 1、PDGF 和 bFGF 表达显著高于对照侧($P<0.05$)。且高于同期 sECM 组实验侧($P<0.05$)。术后 8 周 sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧 BMP-2 表达高于 sECM 组实验侧($P<0.05$)。术后 2 周, sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧 COL-I 表达高于对照侧($P<0.05$)。术后 2 周、4 周 sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧 COL-I 表达均显著高于同期 sECM 组实验侧 ($P<0.05$)。术后 8 周, sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧 wnt5a 表达低于对照侧($P<0.05$)且低于 sECM 组实验侧, β -catenin、Left-1 表达显著高于对照侧($P<0.05$), 且高于 sECM 组实验侧($P<0.05$)。**结论:**HGF 通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路, 上调 BMP-2、TGF- β 1、PDGF、bFGF 和 COL-1 的表达, 显著促进股骨颈骨折家兔的骨折修复过程。

关键词:肝细胞生长因子; Wnt/ β -catenin 通路; 股骨颈骨折; 家兔; 骨折修复

中图分类号:R-33; R683 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2022)20-3834-06

Effects of HGF Regulation of β -catenin Signaling Pathway on the Repair of Femoral Neck Fractures in Rabbits*

SHI Fan-qi¹, WANG Yuan-yuan², ZHENG Xin¹, LIU Shi-quan¹, ZHEN Rui-xin¹

(1 Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde, Hebei, 067000, China;

2 Department of Ophthalmology, Chengde Central Hospital, Chengde, Hebei, 067000, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effects and influencing mechanism of HGF regulating β -catenin signaling pathway on the repair of femoral neck fractures in rabbits. **Methods:** 15 rabbits with femoral neck fractures were randomly divided into semisynthetic extracellular matrix like hydrogel group (sECM group), sECM+HGF group and demineralized bone matrix group (DBM group). The autologous right side was used as the experimental side and the left side as the control side. The general condition, fracture healing quality score, the maximum load, deflection and stiffness of callus and mRNA expression levels of BMP-2, TGF- β 1, PDGF and bFGF and the protein expression levels of COL-I, Wnt5a, β -catenin and Lef-1 in BMSC cells were compared among the groups. **Results:** The fracture healing quality scores of the experimental side in sECM+HGF group and DBM group were higher than the control side at different weeks after surgery ($P<0.05$), and were higher than the experimental side in sECM group ($P<0.05$). At 8 weeks after surgery, the maximum load, deflection and stiffness of the experimental side callus in sECM+HGF group and DBM group were better than those in the control side ($P<0.05$), and the indicators were better than those of the experimental side in sECM group ($P<0.05$). At 2 weeks and 4 weeks after surgery, the expressions of BMP-2, TGF- β 1, PDGF and bFGF in the experimental side were higher than those in the control side in sECM+HGF group and DBM group ($P<0.05$), and the expressions were higher than those in the experimental side of sECM group ($P<0.05$), and the expression of BMP-2 in the experimental side of sECM+HGF group and DBM group was higher than that in the experimental side of sECM group at 8 weeks after surgery ($P<0.05$). At 2 weeks after surgery, the expression of COL-I in the experimental side of sECM+HGF group and DBM group was higher than that in the control side ($P<0.05$). The expression of COL-I in the experimental side of sECM+HGF group and DBM group at 2 and 4 weeks after surgery was higher than that in the experimental side of sECM group during the same period ($P<0.05$). At 8 weeks after surgery, the expression of wnt5a in the experimental side of sECM+HGF group and DBM group was lower than that in the control side ($P<0.05$) and was lower than that in the experimental side of sECM group, while the expressions of β -catenin and Left-1 were higher than those in the control side ($P<0.05$) and were higher than

* 基金项目:承德市基础研究项目(201904A102)

作者简介:史凡祺,硕士,主治医师,E-mail: shifanqi2022@163.com,电话:18131436707

(收稿日期:2022-03-24 接受日期:2022-04-18)

those in the experimental side of sECM group ($P<0.05$). **Conclusion:** HGF up-regulates the expressions of BMP-2, TGF- β 1, PDGF, bFGF and COL-1, and significantly promotes the fracture repair process of rabbits with femoral neck fractures by activating the Wnt/ β -catenin signaling pathway.

Key words: Hepatocyte growth factor; Wnt/ β -catenin signaling pathway; Femoral neck fractures; Rabbits; Fracture repair

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R683 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2022)20-3834-06

前言

股骨颈骨折是直接暴力或间接暴力引起的股骨头以下、颈基底部以上部位出现的骨折情况，患者临床表现为下肢缩短、外展、外旋畸形^[1]。随着内固定材料和技术的不断更新发展，患者的骨折愈合率不断提升^[2]，但仍有部分患者会出现骨折不愈合甚至股骨头坏死^[3]。肝细胞生长因子（Hepatocyte Growth Factor, HGF）是由间充质细胞或骨髓微环境分泌的旁分泌性细胞生长、分化、运动和形态发生的因子，具有较好的促血管内皮细胞增殖效应^[4]，被证实可抑制细胞凋亡，诱导肝细胞定向分化以及抑制组织纤维化进程^[5]。细胞外因子（Wnt）是由Wnt基因编码的富含半胱氨酸的分泌型糖蛋白家族的信号分子^[6]，Wnt/ β -catenin信号通路是目前公认的与骨形成、骨吸收和骨重建过程有关的信号转导通路^[7]。本研究通过构建股骨颈骨折家兔模型，将含有HGF的水凝胶植入家兔模型体内，观察HGF调控Wnt/ β -catenin通路对骨折家兔股骨颈修复的作用和机制。

1 材料与方法

1.1 动物

15只纯系清洁级新西兰大白兔购自武汉大学实验动物中心，不限性别，月龄为6~8月，体质量为2.2 kg~3.5 kg。给予常規颗粒饲料和自由饮水，饲养于通气饲养笼中，维持相对温度为20~25℃，相对湿度40~70%，给予12 h光暗交替照明条件，实验过程均符合动物伦理学标准。

1.2 半合成细胞外基质样水凝胶（Semisynthetic extracellular matrix like hydrogel, sECM）制备

参考Zhao J等人^[8]报道的相关内容，按照sECM（美国sigma Aldrich公司，HyStem-C）说明书进行配置，负载HGF的sECM除溶液A中需按1 mL比例滴加2.5 μg HGF。

1.3 动物分组及处理

将上述经适应性喂养1周后的新西兰大白兔随机分为sECM组、sECM+HGF组和脱钙骨基质组(DBM)，每组各5只，均采用自体左右双侧对照，右侧为实验侧，分别植入sECM、含HGF的sECM和DBM，左侧不做任何措施。各组家兔禁食8 h后备皮，固定家兔使其头部偏向一侧，待麻醉镇静生效后，由右髋关节后外侧做切口，暴露兔股骨颈股，采用显微外科骨刀在股骨颈中部凿段，造成股骨颈骨折，以直径为2 mm的克氏针内固定，分别植入sECM、含HGF的sECM和DBM，完成植入后依次缝合关节囊、肌肉、筋膜和皮肤，采用无菌敷料包扎固定创口，避免创口局部感染。左侧处理步骤与上述一致，但不对股骨颈骨折部位做任何处理即缝合。手术结束后3 d开始给予常规抗感染治疗，8 d后拆线，期间隔日更换一次敷料，当观察到家兔内固定无明显移位、脱落表现，生命体征稳定，饮

食正常，无明显感染症状视为股骨颈骨折造模成功^[9]。

1.4 骨折愈合质量评分

分别于各组家兔手术后2周、4周及8周时进行X线检查，参考先前的文献^[10]根据骨折线模糊程度、股骨头形成、骨痂生长状态和骨髓腔状态对各组家兔进行骨折愈合质量评分：0分代表未发现明显骨痂阴影；1分代表可见骨痂阴影，但骨折线模糊；2分代表可见明显骨痂生长，骨折线较为模糊，骨髓腔未通；3分代表骨痂生长丰富，骨折线十分模糊甚至几乎消失，骨髓腔接近再通；4分代表骨折线完全消失，骨化程度明显，骨髓腔再通。

1.5 生物力学指标

手术后第8周，采用生物力学试验机（美国英斯特朗公司；8874型）以1.5 mm/min的速度对各组家兔股骨颈加载载荷，计算机收集并显示骨痂最大载荷、挠度和刚度。

1.6 细胞因子水平

采用实时荧光定量聚合酶链式反应检测各组家兔骨形态发生蛋白2（Bone morphogenetic protein-2, BMP-2）、转化生长因子- β 1（transforming growth factor- β 1, TGF- β 1）、血小板衍生生长因子（Platelet derived growth factor, PDGF）以及碱性成纤维细胞生长因子（basic fibroblast growth factor, bFGF）的mRNA表达水平。

1.7 免疫印迹检测相关蛋白表达

采用Western blot法检测各组骨痂标本中I型胶原蛋白（Type I collagen, COL-I）和Wnt/ β -catenin信号通路相关蛋白表达。

1.8 统计学分析

采用SPSS22.0统计学软件进行数据处理，计量资料以“均数±标准差”($\bar{x}\pm s$)表示，两组间比较用t检验，多组间比较采用单因素方差分析，计数资料率以(n, %)表示， χ^2 检验， $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组家兔骨折愈合情况比较

术后2周、4周及8周sECM+HGF组和DBM组实验侧骨折愈合质量评分显著高于对照侧($P<0.05$)，术后2周、4周及8周sECM+HGF组和DBM组实验侧骨折愈合质量评分均显著高于同期sECM组实验侧($P<0.05$)，见表1。

2.2 各组家兔骨生物力学指标比较

术后8周，sECM+HGF组和DBM组实验侧骨痂最大荷载、挠度和刚度均显著优于对照侧($P<0.05$)，sECM+HGF组和DBM组实验侧骨痂最大荷载、挠度和刚度均显著优于sECM组实验侧($P<0.05$)，见表2。

表 1 各组家兔骨折愈合质量评分比较($\bar{x} \pm s$, 分)Table 1 Comparison of fracture healing quality score in each group ($\bar{x} \pm s$, points)

Groups		2 w	4 w	8 w
sECM group	Experimental side	1.13±0.18	1.58±0.15	1.86±0.16
	Control side	1.14±0.21	1.51±0.17	1.83±0.18
sECM+HGF group	Experimental side	2.35±0.24*#	3.14±0.32*#	3.96±0.39*#
	Control side	1.12±0.20	1.57±0.17	1.85±0.15
DBM group	Experimental side	2.36±0.29*#	3.13±0.35*#	3.95±0.42*#
	Control side	1.13±0.19	1.56±0.16	1.88±0.18

Note: Compared with the experimental side of sECM group, *P<0.05; compared with the control side of the same group, #P<0.05.

表 2 各组家兔骨生物力学指标比较($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of bone biomechanical indicators in each group ($\bar{x} \pm s$)

Groups		Maximum load(N)	Deflection(mm)	Stiffness(N*mm)
sECM group	Experimental side	325.69±21.43	2.71±0.25	194.16±18.73
	Control side	321.74±20.45	2.70±0.21	191.44±15.65
sECM+HGF group	Experimental side	402.78±29.48*#	3.28±0.31*#	426.95±27.46*#
	Control side	328.46±25.24	2.72±0.25	195.63±20.08
DBM group	Experimental side	396.65±28.37*#	3.25±0.34*#	431.71±25.15*#
	Control side	330.65±22.98	2.70±0.23	198.14±19.66

Note: Compared with the experimental side of sECM group, *P<0.05; compared with the control side of the same group, #P<0.05.

2.3 各组家兔相关细胞因子指标比较

术后 2 周, sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧 BMP-2、TGF-β1、PDGF 和 bFGF 表达显著高于对照侧($P<0.05$)。术后 4 周, sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧 BMP-2、TGF-β1、PDGF 和 bFGF 表达显著高于对照侧($P<0.05$)。术后 8 周,

sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧 BMP-2 表达显著高于对照侧($P<0.05$)。术后 2 周、4 周 sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧上各因子表达均显著高于同期 sECM 组实验侧($P<0.05$), 术后 8 周 sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧 BMP-2 表达高于 sECM 组实验侧($P<0.05$), 见表 3。

表 3 各组家兔相关细胞因子指标比较($\bar{x} \pm s$, /GAPDH)Table 3 Comparison of related cytokines of rabbits in each group ($\bar{x} \pm s$, /GAPDH)

Groups		2 w			
		BMP-2	TGF-β1	PDGF	bFGF
sECM group	Experimental side	1.16±0.11	0.98±0.10	0.99±0.08	1.05±0.12
	Control side	1.12±0.09	1.00±0.11	1.01±0.12	1.03±0.11
sECM+HGF group	Experimental side	4.16±0.36*#	5.22±0.53*#	5.17±0.46*#	4.83±0.39*#
	Control side	1.00±1.02	1.02±0.12	1.04±0.15	1.01±0.15
DBM group	Experimental side	4.20±0.41*#	5.19±0.48*#	5.22±0.51*#	4.76±0.42*#
	Control side	0.98±0.09	0.99±0.08	0.94±0.08	0.97±0.07

Continued table 3

Groups		4 w			
		BMP-2	TGF-β1	PDGF	bFGF
sECM group	Experimental side	0.95±0.08	0.97±0.13	0.92±0.09	0.98±0.10
	Control side	0.96±0.06	0.95±0.11	0.94±0.11	0.99±0.11
sECM+HGF group	Experimental side	3.26±0.31*#	2.87±0.25*#	2.95±0.33*#	4.16±0.42*#
	Control side	0.91±0.12	0.93±0.10	0.95±0.10	0.96±0.11
DBM group	Experimental side	3.33±0.35*#	2.92±0.31*#	3.10±0.36*#	4.23±0.41*#
	Control side	0.92±0.09	0.94±0.08	0.97±0.07	0.99±0.09

Continued table 3

续表 3 各组家兔相关细胞因子指标比较($\bar{x}\pm s$, /GAPDH)
Table 3 Comparison of related cytokines of rabbits in each group ($\bar{x}\pm s$, /GAPDH)

Groups		8 w			
		BMP-2	TGF-β1	PDGF	bFGF
sECM group	Experimental side	0.97±0.11	0.82±0.08	0.87±0.07	0.95±0.09
	Control side	0.95±0.13	0.85±0.11	0.82±0.15	0.93±0.11
sECM+HGF group	Experimental side	1.63±0.18*#	0.81±0.09	0.91±0.13	0.99±0.13
	Control side	0.92±0.10	0.83±0.08	0.89±0.11	0.97±0.12
DBM group	Experimental side	1.59±0.16*#	0.86±0.10	0.85±0.09	0.96±0.09
	Control side	0.99±0.10	0.89±0.09	0.87±0.07	0.94±0.08

Note: Compared with the experimental side of sECM group, *P<0.05; compared with the control side of the same group, #P<0.05.

2.4 各组家兔 COL-I 表达比较

术后 2 周, sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧 COL-I 表达显著高于对照侧($P<0.05$)。术后 4 周, sECM 组、sECM+HGF 组和 DBM 组双侧 COL-I 表达均无明显差异($P>0.05$)。术后 2 周、4

周 sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧 COL-I 表达均显著高于同期 sECM 组实验侧($P<0.05$)。术后 8 周, 三组双侧均无 COL-1 表达, 见表 4。

表 4 各组家兔 COL-I 表达比较($\bar{x}\pm s$, /β-actin)
Table 4 Comparison of COL-I expression of rabbits in each group ($\bar{x}\pm s$, /β-actin)

Groups		2 w		4 w		8 w	
		2 w	4 w	2 w	4 w	2 w	4 w
sECM group	Experimental side	20.63±1.38	3.78±0.63	0	0	0	0
	Control side	19.87±1.23	3.75±0.51	0	0	0	0
sECM+HGF group	Experimental side	31.94±1.47*#	3.91±0.77	0	0	0	0
	Control side	20.43±1.28	3.80±0.62	0	0	0	0
DBM group	Experimental side	32.25±1.33*#	3.88±0.59	0	0	0	0
	Control side	21.07±1.25	3.82±0.73	0	0	0	0

Note: Compared with the experimental side of sECM group, *P<0.05; compared with the control side of the same group, #P<0.05.

2.5 各组家兔第 8 周 Wnt/β-catenin 信号通路表达比较

术后 8 周, sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧 wnt5a 表达显著低于对照侧($P<0.05$), β-catenin、Left-1 表达显著高于对照侧($P<0.05$), sECM 组双侧 wnt5a、β-catenin 和 Left-1 表达均无明显差异($P>0.05$), sECM+HGF 组和 DBM 组实验侧 wnt5a 表达显著低于 sECM 组实验侧, β-catenin 和 Left-1 显著高于 sECM 组实验侧($P<0.05$), 见图 1、图 2。

3 讨论

骨折是由外伤或暴力导致的骨完整性、连续性中断的临床常见病, 股骨颈骨折是老年人群多发病, 患者发生股骨颈骨折后, 股骨头血流供应下降, 导致股骨头缺血性坏死等并发症^[1], 严重影响老年人生活质量和社会健康。随着近年来分子生物学技术的不断突破, 越来越多的研究发现多种生长因子参与调节骨折修复过程, 影响新骨形成^[12,13]。HGF 是来源于间叶组织的细胞因子, 被证实不仅可促进血管生成, 还参与调控细胞内骨形态发生蛋白受体的表达水平, 进而影响骨组织再生修复^[14]。本次研究利用细胞支架及分子传输系统 sECM 搭载 HGF 处理股骨颈骨折家兔, 旨在探究 HGF 分子对于兔骨折修复的作用及潜在调控机制。

本次研究结果发现, 与单纯采用 sECM 处理的实验侧相

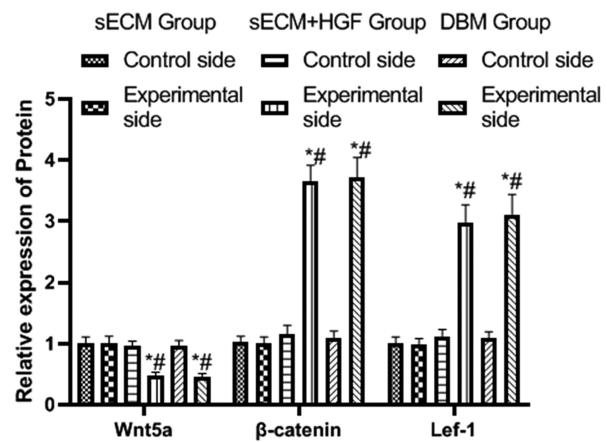


图 1 各组 Wnt/β-catenin 信号通路表达比较
Fig. 1 Comparison of expressions of Wnt/β-catenin signaling pathways in each group

比, 经 HGF 和 DBM 处理后的实验侧骨折愈合情况显著好转, 说明 HGF 和 DBM 对于家兔股骨颈骨折修复有较好的促进效果。DBM 是目前临床常用的治疗骨缺损、骨质疏松和骨折的复合物天然骨移植材料, 广泛用于人和家兔等动物颅骨、胫骨和股骨的修复^[15]。本次结果中 HGF 拥有与 DBM 相似的修复作用, HGF 作为细胞凋亡抵抗因子, 不仅可有效抵抗细胞氧损

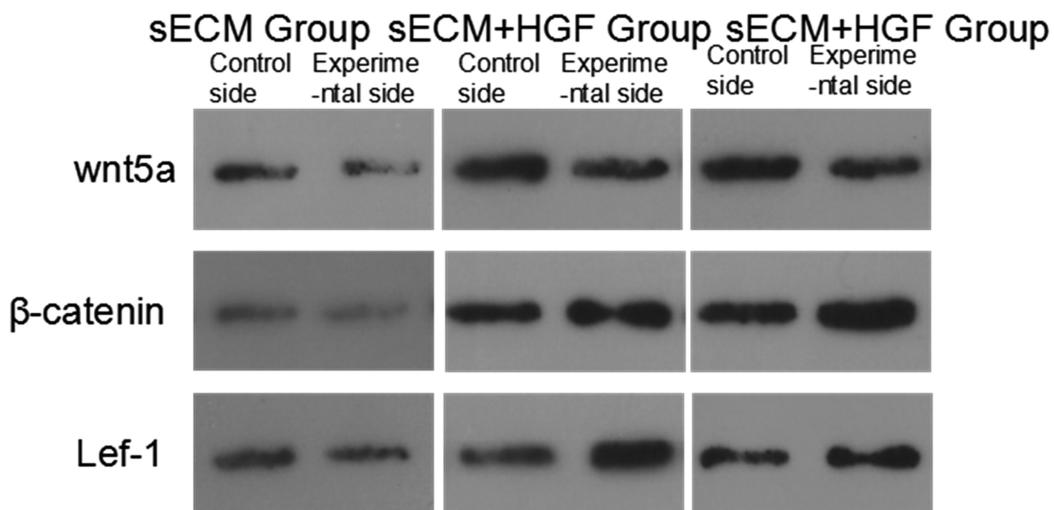


图 2 各组 Wnt/β-catenin 信号通路表达比较

Fig. 2 Comparison of expressions of Wnt/β-catenin signaling pathways in each group

伤,促进新生血管生成,还可促进植入细胞的存活,趋化周围干细胞至骨损伤部位,加速骨再生和骨修复,本次研究证实了 HGF 与 DBM 拥有相似的作用效果,均在家兔骨折治疗中治疗效果优异。本实验结果还发现,经 HGF 和 DBM 处理后的家兔实验侧骨折愈合评分显著高于未经处理的对照侧,且实验侧家兔骨痂最大荷载、挠度和刚度均显著优于对照侧。HGF 是由含 25 个氨基酸前体序列和 29 个信号序列的氨基酸残基前肽,在人和动物体内多以单链形式存在。HGF 最初被发现对于肝细胞增殖有明显促进作用,随着对 HGF 的不断探索,越来越多的研究指出 HGF 同样可作用于造血细胞、上皮细胞和血管内皮细胞等多种细胞,通过自分泌或旁分泌等机制调节其多种细胞的生长、分化、发育、运动和形态,进而在创伤后修复、胚胎发育、血管再生以及组织器官再生中发挥关键作用^[16-18]。在本次研究中,HGF 通过促进血管内皮细胞增殖、分化过程,促进来源于间叶组织的骨和软骨的有丝分裂过程,刺激多个骨组织细胞代谢活性,加速软骨细胞形成和退化,分化成骨样组织,诱导软骨基质钙化^[19],从而促进家兔股骨颈骨折愈合修复过程,加速骨再生和骨修复,因此,经 HGF 处理后的家兔骨折愈合评分、骨痂最大荷载、挠度以及刚度均显著提升。

本次研究发现,经 HGF 和 DBM 处理后家兔实验侧 BMSC 细胞中 BMP-2、TGF-β1、PDGF 和 bFGF 的 mRNA 表达水平显著高于对照侧,且实验侧 COL-1 的蛋白表达也较对照侧明显偏高。此外,HGF 还可显著活化骨痂组织中 Wnt/β-catenin 信号通路,下调 wnt5a,上调 β-catenin 和 Lef-1 表达。BMP-2 蛋白最早由国外学者 URist 发现,具有诱导未分化间充质细胞分化为软骨、成骨细胞的细胞因子,对于新骨形成有极强的促进作用^[20]。TGF-β1 作为广泛分布于免疫系统和骨骼中的多肽分子,可通过调节骨痂中的软骨、成骨形成,诱导成骨分化和破骨吸收,影响胶原蛋白、骨桥蛋白和骨粘连蛋白的合成分泌。Huang Y 等人^[21]研究指出,TGF-β1 可调控 Smad 和 Smad3 的表达影响人骨髓间充质肝细胞的成骨分化过程,补骨脂素可通过激活 TGF-β/Smad3 通路诱导骨髓间充质干细胞的成骨分化,上调骨桥蛋白、Rnux2、BMP-4 等钙沉积相关基因和成骨分化相关基因的表达,在成骨分化过程中发挥重要作用。PDGF 是调控血

小板衍生机制的强效趋化因子,可通过影响细胞有丝分裂周期诱导成纤维细胞和成骨细胞的增殖、分化和转移,促进骨折部位的愈合和修复^[22]。bFGF 通过影响成骨细胞增殖、分化以及骨性形成过程影响骨折部位血管生成和血流供应,调控骨组织重建和愈合过程。COL-1 作为骨组织重要组成部分,广泛分布于全身多个组织中,发挥维持骨骼等组织完整性的作用。Wnt/β-catenin 信号通路是调控成骨分化过程的经典信号通路,活化的 Wnt/β-catenin 通路可抑制间充质干细胞分化为脂肪细胞,诱导成骨细胞分化和骨形成,促进骨新陈代谢和骨折愈合过程^[23]。Li XH 等人^[24]报道称,不同剂量的红景天苷可显著增强 Wnt3/β-catenin 信号通路的表达,加速钙沉积形成,激活碱性磷酸酶活性,从而显著提高脂肪基质细胞的成骨分化,沉默 β-catenin 可部分逆转红景天苷的成骨分化作用,进一步证实 Wnt3/β-catenin 信号通路在成骨分化过程中扮演的重要角色。在本次研究中,HGF 通过激活 Wnt/β-catenin 信号通路信号转导级联,抑制 wnt5a 的表达,拮抗 β-catenin 的降解,使 β-catenin 在细胞质内不断积累并进入细胞核中^[25],结合 Lef-1 等转录因子,触发 Smad 依赖性或非依赖性途径的信号转导,诱导 BMSC 细胞内源性增殖和成骨分化,调节骨组织形成、骨再生,维持骨稳态平衡^[26],加速骨折愈合修复,上调 BMSC 细胞中促骨重建相关细胞因子 BMP-2、TGF-β1、PDGF、bFGF 和 COL-1 的表达,激活 Wnt/β-catenin 信号通路。

综上所述,本次研究结果表明,HGF 可通过激活 Wnt/β-catenin 信号通路,改善骨痂最大荷载、挠度和刚度等骨生物力学指标,上调 BMP-2、TGF-β1、PDGF、bFGF 和 COL-I 等促进骨重建、骨形成、骨再生相关细胞因子的表达,促进股骨颈骨折家兔的骨折修复,提示 HGF 在治疗股骨颈骨折方面应用前景广阔,为临床治疗股骨颈骨折提供更多思路和数据支持。

参考文献(References)

- [1] Dolatowski FC, Frihagen F, Bartels S, et al. Screw Fixation Versus Hemiarthroplasty for Nondisplaced Femoral Neck Fractures in Elderly Patients: A Multicenter Randomized Controlled Trial [J]. J Bone Joint Surg Am, 2019, 101(2): 136-144
- [2] Fixation using Alternative Implants for the Treatment of Hip fractures

- (FAITH) Investigators. Fracture fixation in the operative management of hip fractures (FAITH): an international, multicentre, randomised controlled trial[J]. Lancet, 2017, 389(10078): 1519-1527
- [3] Okike K, Udogwu UN, Isaac M, et al. Not All Garden-I and II Femoral Neck Fractures in the Elderly Should Be Fixed: Effect of Posterior Tilt on Rates of Subsequent Arthroplasty [J]. J Bone Joint Surg Am, 2019, 101(20): 1852-1859
- [4] Sahan OB, Gunel-Ozcan A. Hepatocyte Growth Factor and Insulin-like Growth Factor-1 based Cellular Therapies for Oxidative Stress Injury [J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2021, 16(7): 771-791
- [5] Morishita R, Shimamura M, Takeya Y, et al. Combined Analysis of Clinical Data on HGF Gene Therapy to Treat Critical Limb Ischemia in Japan[J]. Curr Gene Ther, 2020, 20(1): 25-35
- [6] Ji L, Lu B, Zamponi R, et al. USP7 inhibits Wnt/β-catenin signaling through promoting stabilization of Axin [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 4184
- [7] Zhou Y, Wang T, Hamilton JL, et al. Wnt/β-catenin Signaling in Osteoarthritis and in Other Forms of Arthritis [J]. Curr Rheumatol Rep, 2017, 19(9): 53
- [8] Zhao J, Zhang N, Prestwich GD, et al. Recruitment of endogenous stem cells for tissue repair[J]. Macromol Biosci, 2008, 8(9): 836-842
- [9] Zhang XL, Wang YM, Chu K, et al. The application of PRP combined with TCP in repairing avascular necrosis of the femoral head after femoral neck fracture in rabbit[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(4): 903-909
- [10] 郑毅."接骨丹"对兔骨折愈合过程的促进作用效应试验研究[D].湖北:湖北中医药大学, 2016
- [11] Phruethiphat OA, Lawanprasert A, Khuangsirikul S, et al. Effectiveness of Periarticular Injection After Bipolar Hemiarthroplasty for Displaced Femoral Neck Fracture in Elderly Patients: A Double Blinded Randomized, Controlled Study [J]. J Arthroplasty, 2021, 36(6): 2006-2011
- [12] Huang Z, Wei H, Wang X, et al. Icariin promotes osteogenic differentiation of BMSCs by upregulating BMAL1 expression via BMP signaling[J]. Mol Med Rep, 2020, 21(3): 1590-1596
- [13] 曹国, 陈枫文, 胡杨, 等. 桤醇通过上调 BMP-2 表达激活 Wnt/β-catenin 信号通路促进大鼠股骨骨折愈合[J]. 广西医科大学学报, 2021, 38(7): 1380-1387
- [14] Naung NY, Duncan WJ, De Silva RK, et al. HGF/MET in osteogenic differentiation of primary human palatal periosteum-derived mesenchymal stem cells[J]. J Oral Sci, 2021, 63(4): 341-346
- [15] Alom N, Peto H, Kirkham GR, et al. Bone extracellular matrix hydrogel enhances osteogenic differentiation of C2C12 myoblasts and mouse primary calvarial cells [J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2018, 106(2): 900-908
- [16] Hefka Blahnova V, Dankova J, Rampichova M, et al. Combinations of growth factors for human mesenchymal stem cell proliferation and osteogenic differentiation[J]. Bone Joint Res, 2020, 9(7): 412-420
- [17] 李若涵, 余文婷, 华超, 等. 肝细胞生长因子对成骨细胞增殖、凋亡及成骨分化的影响[J]. 口腔医学, 2020, 40(8): 688-691
- [18] Zhang XJ, Olsavszky V, Yin Y, et al. Angiocrine Hepatocyte Growth Factor Signaling Controls Physiological Organ and Body Size and Dynamic Hepatocyte Proliferation to Prevent Liver Damage during Regeneration[J]. Am J Pathol, 2020, 190(2): 358-371
- [19] Kong F, Shi X, Xiao F, et al. Transplantation of Hepatocyte Growth Factor-Modified Dental Pulp Stem Cells Prevents Bone Loss in the Early Phase of Ovariectomy-Induced Osteoporosis [J]. Hum Gene Ther, 2018, 29(2): 271-282
- [20] 王冬香, 王光素, 唐正龙, 等. 下颌骨髁突高位骨折游离复位愈合过程中 DKK-1/BMP-2 的表达研究[J]. 口腔医学研究, 2020, 36(8): 748-752
- [21] Huang Y, Liao L, Su H, et al. Psoralen accelerates osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells by activating the TGF-β/Smad3 pathway[J]. Exp Ther Med, 2021, 22(3): 940
- [22] Cao Z, Xie Y, Yu L, et al. Hepatocyte growth factor (HGF) and stem cell factor (SCF) maintained the stemness of human bone marrow mesenchymal stem cells (hBMSCs) during long-term expansion by preserving mitochondrial function via the PI3K/AKT, ERK1/2 and STAT3 signaling pathways[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 329
- [23] Wang Y, Zhang X, Shao J, et al. Adiponectin regulates BMSC osteogenic differentiation and osteogenesis through the Wnt/β-catenin pathway[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 3652
- [24] Li XH, Chen FL, Shen HL. Salidroside promoted osteogenic differentiation of adipose-derived stromal cells through Wnt/β-catenin signaling pathway[J]. J Orthop Surg Res, 2021, 16(1): 456
- [25] 曾照辉, 刘怡, 王国梁, 等. 姜黄素通过激活 Wnt/β-catenin 信号通路促进骨折愈合[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(16): 3011-3017, 3048
- [26] Zhang M, Bian YQ, Tao HM, et al. Simvastatin induces osteogenic differentiation of MSCs via Wnt/β-catenin pathway to promote fracture healing[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(9): 2896-2905