

• 综 述 •

甲状旁腺素及甲状旁腺素相关肽在骨组织工程中的原位应用



郝卓文 综述 李景峰 审校

武汉大学 中南医院 脊柱与骨肿瘤科 (武汉 430071)

【摘要】 甲状旁腺素 (PTH) 具有调节骨重构、促血管生成等多重作用, 是一种极具应用潜力的骨修复活性因子。近年来, 随着支架材料负载策略、甲状旁腺素相关肽 (PTHrPs) 的发展, 支架材料原位负载 PTH 或 PTHrPs 治疗促进骨缺损愈合逐渐成为可能。本文基于系统间歇性 PTH (iPTH) 应用于骨组织工程的现状与挑战, 就 PTH 的原位负载策略及 PTHrPs 的构建两方面进行阐述, 并探讨了该领域存在的问题及未来的研究方向, 以期促进支架材料原位负载 PTH 或 PTHrPs 的临床应用。

【关键词】 甲状旁腺素; 甲状旁腺素相关肽; 骨愈合; 骨再生; 原位负载策略

Local administration of parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptides for bone tissue engineering

HAO Zhuowen, LI Jingfeng

Department of Spine Surgery and Musculoskeletal Tumor, Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan 430071, P.R.China

Corresponding author: LI Jingfeng, Email: hbjfeng@163.com

【Abstract】 Parathyroid hormone (PTH) exerts multiple effects such as regulating bone remodeling, promoting angiogenesis, etc., and it is an active factor with great application potential for bone repair. In recent years, with the development of scaffold material loading strategies and parathyroid hormone-related peptides (PTHrPs), in situ loading of PTH or PTHrPs on scaffold materials to promote bone defect healing gradually becomes possible. Based on the current status and challenges of intermittent PTH (iPTH) for bone tissue engineering, the review summarizes the in-situ application strategies of PTH and the construction of PTHrPs as well as current problems and further directions in this field, with a view to propel the clinical application of scaffold materials loaded with PTH or PTHrPs *in situ*.

【Key words】 parathyroid hormone; parathyroid hormone-related peptides; bone healing; bone regeneration; local delivery strategies

引言

骨组织在损伤后具有一定的自愈能力, 但骨延迟愈合或不愈合在临床发生率高于 10%, 若合并有骨质疏松症等慢性疾病, 患者的骨愈合能力将进一步退化^[1]。目前, 我国 50 岁以上患有骨质疏松症人数达 6 940 万^[2], 而年龄超过 50 岁的女性骨质疏松性骨折的发生率高达 40%, 同年龄段男性则为 14%^[3]。骨质疏松性骨折危害极大, 尤其是髋部骨

折, 严重影响患者生活质量, 甚至导致老年患者残疾或死亡^[4]。除骨折外, 骨感染、骨肿瘤切除等均可造成大段骨缺损, 当缺损超过一定范围, 往往不能自行愈合^[5-6]。

自体骨移植是外科骨修复的金标准, 但可能导致出血、感染、慢性疼痛等并发症而无法满足临床需求^[7-8]。目前, 骨组织工程逐渐成为临床治疗骨缺损、修复骨折的理想方法, 其主要由三大基本要素构成: 支架材料、种子细胞及活性因子^[9]。骨形态发生蛋白-2 (bone morphogenetic protein-2, BMP-2) 是一种目前已用于临床治疗骨缺损、修复骨折的活性因子, 但大量的临床证据表明高剂量 BMP-2 容易导致一系列临床副反应, 包括脊神经根炎、异位成骨、椎体骨质溶解、血肿形成、肿瘤发生等^[10-11]。

DOI: 10.7507/1001-5515.202104045

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81871752); 湖北省自然科学基金资助项目 (2020CFB551); 武汉大学中南医院国家自然科学基金培育项目 (znp2019074)

通信作者: 李景峰, Email: hbjfeng@163.com



因此,原位使用 BMP-2 的替代活性因子具有重要意义。

甲状旁腺素 (parathyroid hormone, PTH) 及氮端活性序列 PTH1-34 (商品名为: 特立帕肽) 可作用于骨组织, 通过骨重构维持血清钙磷的含量^[12-13]。PTH 和 PTH1-34 兼具成骨作用及破骨作用, 而 PTH 和 PTH1-34 的剂量及持续时间影响骨量的增减。当患者患有原发性甲状旁腺功能亢进症 (primary hyperparathyroidism, PHPT) 时, 患者骨皮质的骨密度减少; 而当骨质疏松症患者每日接受间歇性皮下注射低剂量 PTH 或 PTH1-34 治疗时, 患者皮质骨及松质骨的骨密度增加^[14]。有研究表明当持续性、高剂量 PTH 或 PTH1-34 作用于骨组织时, PTH 或 PTH1-34 发挥破骨作用; 当间歇性、低剂量 PTH 或 PTH1-34 作用于骨组织时, PTH 或 PTH1-34 发挥成骨作用^[15]。此外, 轻度 PHPT 患者可以维持骨松质骨密度, 但患者发生骨折的风险与 PHPT 的严重程度并无相关性, 因此预测持续性 PTH 介导成骨作用抑或破骨作用时可能存在阈值, 即持续释放的 PTH 剂量高于阈值时表现为破骨作用, 而低于阈值时则表现为成骨作用^[16]。综上所述, 间歇性、低剂量或持续性、低剂量 PTH 或 PTH1-34 发挥成骨作用。本文首先概述了间歇性 PTH (intermittent PTH, iPTH) 应用于骨组织工程的现状与挑战, 接着综述了 PTH 原位应用于骨组织工程的负载策略以及相对减低破骨能力的 PTH 相关肽 (PTH-related peptides, PTHrPs) 的构建策略, 最后探讨了该领域存在的问题及未来的研究方向。本文有望为科研人员研发其他全新的 PTHrPs 提供思路, 并期待对 PTH 及 PTHrPs 在骨组织工程中的临床应用奠定理论基础。

1 间歇性甲状旁腺素应用于骨组织工程的现状与挑战

iPTH 已得到美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准用于治疗临床绝经后女性骨质疏松症, 具体治疗方式为系统性每日皮下注射低剂量 PTH1-34^[17]。近年来, iPTH 逐渐用于骨缺损、骨再生的研究。例如, Jiang 等^[18]将钛棒植入老年大鼠股骨远端, 接着对大鼠每日行 iPTH 治疗, 结果表明 iPTH 促进骨再生、血管生成及移植物整合。另有研究将自组装肽水凝胶作为一种支架材料原位移植于大鼠牙周骨缺损部位, 同时对大鼠每 2 d 行 iPTH 治疗, 原位移植自组装肽水凝胶协同 iPTH 显著促进了牙周骨愈合^[19]。最近,

有研究认为, iPTH 治疗可在临床相关大动物骨缺损模型中促进上颌骨骨缺损愈合, 进一步推动 iPTH 在临床中的应用^[20]。这些研究结果表明, 移植物或支架材料联合 iPTH 治疗, 可以促进骨缺损部位骨再生, 是一种较理想的临床骨修复治疗措施。

目前, iPTH 存在诸多缺陷: ① PTH1-34 价格昂贵, 长时间使用患者经济负担较重; ② 每日皮下注射往往导致患者依从性差; ③ PTH1-34 半衰期短, iPTH 治疗无法有效确保局部 PTH1-34 的生物学活性; ④ iPTH 可导致全身其他系统不良反应。针对上述缺点, 原位应用 PTH 或 PTH1-34 是一种替代 iPTH 的理想策略。原位应用策略可将 PTH 或 PTH1-34 局部递送到骨缺损部位, 规避 PTH 或 PTH1-34 对其他系统的影响, 同时治疗总剂量远低于 iPTH 治疗剂量, 可减轻患者负担, 节约社会资源。目前关于原位应用 PTH 或 PTH1-34 促进骨再生的研究相对较少, 其面临的困难主要在于如何合理地负载 PTH 或 PTH1-34, 以及如何相对减低 PTH 或 PTH1-34 的破骨活性。因此, 目前研究重点在于探究 PTH 或 PTH1-34 的原位负载策略以及探究可相对降低破骨活性的 PTHrPs。

2 甲状旁腺素在骨组织工程中的原位应用

2.1 甲状旁腺素脉冲式释放

PTH 脉冲式释放是一种将 PTH 或 PTH1-34 分层负载于脉冲式释放支架, 模拟间歇性、低剂量 PTH 或 PTH1-34 释放, 从而促进骨再生的技术方法。脉冲式释放支架由药物隔离层及药物储存层间隔构成, 两层均为可降解材料。当隔离层溶解或降解后, 药物从储存层迅速释放, 药物释放速率取决于隔离层的结构及厚度^[21]。

2017年, Dang 等^[21]构建了一种 PTH 脉冲式释放支架, 该支架采取一种表面可降解的聚酸酐 (polyanhydride, PA) 作为药物隔离层, 将 PTH1-34 与海藻酸混合并冷冻干燥, 制备了药物储存层。PA 层与聚四氟乙烯薄膜摩擦后在 PA 层表面产生正电荷, 含 PTH1-34 的海藻酸层与玻璃薄片摩擦后表面产生负电荷, 一层带正电荷的 PA 膜与一层带负电荷的 PTH/海藻酸膜通过静电吸引形成一个双层单元。进而将 21 个双层单元堆叠, 周围三面由聚己内酯/二氯甲烷封闭, 而敞开一面供 PTH1-34 单向释放。该 PTH 脉冲式释放支架可实现 PTH1-34 间歇性、低剂量释放长达 21 d, 从而有效避免破骨细胞的过量激活, 可通过介导骨重构促进新骨生成。进一步, 研究人员在小鼠颅骨临界尺寸骨缺损

部位同时植入一种三维仿生纳米纤维支架及该 PTH 脉冲释放式支架, PTH1-34 可从后者间歇性释放至前者。研究表明, PTH 脉冲释放式支架可有效促进三维仿生纳米纤维支架形成交联且强健的新生骨组织, 实现骨缺损愈合。此外, 该脉冲式释放支架促成骨效果优于 iPTH 治疗组, 诱导的新生骨组织质量更高, 表明 PTH 脉冲式释放支架可避免 PTH1-34 被外周组织降解, 骨再生效率更高^[22]。因此, 原位移植 PTH 脉冲式释放支架是一种优于 iPTH 的治疗策略。

在保证同等骨再生能力的基础上, 若将 PTH 脉冲式释放支架的释放间隔调整为每 2 d 或每 3 d 脉冲式释放一次, 则可进一步减低 PTH 或 PTH1-34 使用总剂量, 甚至延长 PTH 脉冲式释放支架的有效使用时长。但是鉴于目前研究尚处于实验室阶段, PTH 脉冲式释放支架的成骨作用仍需在大动物骨缺损模型及临床中进一步验证。

2.2 甲状旁腺素缓释

PTH 缓释是一种将 PTH 或 PTH1-34 负载于具有控制释放能力的支架内, 基于持续性、小剂量 PTH 或 PTH1-34 释放而促进骨再生的技术手段。根据形态, 具有控制释放能力的支架可分为水凝胶及固态生物材料支架。

2.2.1 水凝胶负载

水凝胶是一种含水量高具有多孔结构的三维交联网络, 拥有与天然细胞外基质相似的三维环境, 可作为支架材料供细胞生长、增殖及分化, 同时也可作为生长因子缓释支架^[23-24]。Wojda 等^[25]将 PTH 直接溶解于巯基聚乙二醇 (poly (ethylene glycol), PEG) 水凝胶基质内, 约 80% 的 PTH 于前 3 d 暴释, 而剩余 20% PTH 缓慢释放至第 14 d, 这可能是由于 PTH 小于水凝胶孔隙造成的。研究人员将未负载或负载 PTH 的水凝胶渗透于具有骨传导性的支架材料内, 并移植入大鼠股骨临界尺寸骨缺损。根据 PTH 的含量, 该研究分三个组别, 分别为对照组 (0 μg PTH) 和治疗组 (10 μg PTH 组、30 μg PTH 组)。术后 12 周, 对照组、10 μg PTH 治疗组及 30 μg PTH 治疗组的骨缺损均未完全由新生骨组织填充, 但 10 μg PTH 治疗组的骨缺损可由骨与软骨组织复合物完全愈合, 且 10 μg PTH 治疗组的骨生成能力优于 30 μg PTH 治疗组。实验结果进一步表明, 在一定释放规律下, PTH 发挥骨合成作用时存在一定阈值, 低于该阈值时, 连续性 PTH 发挥骨合成代谢作用。另一项研究中, 研究人员将 PTH 以基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 可降解的氨基酸序列共价连接于巯基 PEG

水凝胶基质^[26]。体外实验表明, 最初两周只有 8% 的 PTH 从体系释放, 而随着 PEG 水凝胶的水解, 80% 的 PTH 在第 8 ~ 21 d 释放, 而 PTH 全部释放则需要 28 d^[26]。体系移植入体内, 相比于 30 μg PTH 治疗组, 负载 3 μg 及 10 μg 的 PTH 治疗组生成骨量较多, 缺损融合率更高。3 μg PTH 治疗组骨缺损由软骨及骨的复合物完全连接, 若观测时间超过 12 周, 骨缺损部位可能由骨组织完全愈合。同样, 亦有较早的研究将 PTH1-34 通过纤溶酶可降解序列及转谷氨酰胺酶因子 (transglutaminase, TG) XIIIa 序列 (TGXIIIa) 共价结合获得一种 PTH 前体药物^[27]。该前体药物通过 TGXIIIa 共价结合于纤维蛋白水凝胶, 将 PTH1-34 的生物学活性降低了 80 倍。而 PTH1-34 经酶解作用释放后可恢复生物学活性, 因此成功避免了原位破骨细胞大量激活所介导的骨吸收。将共价结合 PTH1-34 的纤维蛋白水凝胶移植入羊干骺端及骺端骨缺损, 与未负载 PTH1-34 的纤维蛋白水凝胶相比, 共价结合 PTH1-34 的水凝胶明显促进骨缺损部位骨再生, 同时组织学分析表明, 含有 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ PTH 前体药物的纤维蛋白水凝胶具有较高的新骨生成潜能^[27]。

上述研究表明, 水凝胶负载 PTH 或 PTH1-34 可有两种方式, 其一为将 PTH 或 PTH1-34 直接溶解于水凝胶基质, PTH 或 PTH1-34 通过水凝胶纤维所形成的三维孔隙而缓释; 其二为将 PTH 或 PTH1-34 通过特定的氨基酸或氨基酸序列共价结合于水凝胶基质, 通过水解作用或酶解作用实现 PTH 或 PTH1-34 的缓释。显然, 不同负载方式及不同负载材料促进骨愈合所需剂量不同, 该领域有诸多问题尚需解决。对于第一种负载策略, 应当优选水凝胶体系, 通过减小孔隙而减少初始 PTH 或 PTH1-34 暴释, 但孔隙过小可能影响细胞迁移、增殖、分化及生长。第二种负载策略可有效避免初始 PTH 或 PTH1-34 暴释, 缓释效果更优, 可能更适用于 PTH 或 PTH1-34 的原位负载。

有机-无机两相水凝胶较单独水凝胶机械性能得到提高。Zou 等^[28]将纳米羟基磷灰石封装于壳聚糖/海藻酸钠水凝胶体系内构建有机-无机两相水凝胶, 同时也将 PTH1-34 直接溶解于水凝胶基质内。该负载有 PTH1-34 的两相水凝胶支架可通过 Notch 信号通路诱导大鼠骨髓来源间充质干细胞成骨分化。体内颅骨缺损再生实验进一步证实联合负载 PTH1-34 及纳米羟基磷灰石的水凝胶诱导生成更多的新生骨组织, 表明纳米羟基磷灰石与 PTH1-34 协同负载可促进骨再生。未来研究可将

具有生物学活性的无机物颗粒,如非晶态镁磷酸盐^[29],封装入水凝胶,以进一步促进移植体系的骨再生能力。此外,由多种天然生物材料(如胶原、明胶、壳聚糖等)、合成生物材料(如聚环氧乙烷,聚乙烯醇,聚富马酸丙酯等)通过物理或化学方法构建的可注射水凝胶可通过微创注射的方式递送于骨缺损部位(尤其适合于形态不规则的骨缺损),可避免开放性手术对患者的创伤,因此使用可注射水凝胶负载 PTH 或 PTH1-34 具有潜在临床应用价值^[30]。

2.2.2 固态生物材料支架负载 PTH 或 PTH1-34 除可负载于水凝胶促进骨组织再生,亦可负载于具有控制释放能力的固态生物材料支架内。在含有 PTH 的改进模拟体液中,采取共沉淀的方法,可在固态生物材料支架表面形成包裹有 PTH 的钙磷涂层,随着局部钙磷涂层的溶解,PTH 可原位缓释于骨再生微环境^[31]。然而,通过钙磷涂层负载 PTH 的技术手段无法精确控制 PTH 的释放,不同批次产品间 PTH 含量不同,不具有可重复性,因此研究人员逐渐将 PTH 或 PTH1-34 直接负载于固态生物材料支架。胶原支架是一种可原位负载 PTH 或 PTH1-34 用于骨组织再生的固态生物材料支架。研究人员将 20 μg PTH 直接浸润于胶原支架,接着移植于大鼠颅骨临界尺寸骨缺损,术后 15 d 行组织学检测,实验结果表明负载有 PTH 的胶原支架比未负载 PTH 的胶原支架诱导产生更多的新生骨组织^[32]。由于骨主要由无机物与有机物构成,理想的固态生物材料支架应通过构建无机—有机复合固态生物材料支架模拟骨组织成分。Tao 等^[33]使用 β-磷酸三钙(β-tricalcium phosphate, β-TCP)联合胶原构建一种无机—有机复合固态生物材料支架,向该支架材料滴加了 1 μg 的 PTH1-34 悬液(PTH1-34/β-TCP/胶原组)后,移植于骨质疏松性大鼠股骨干骺端骨缺损部位,而未滴加 PTH1-34 悬液的 β-TCP 联合胶原生物材料支架(β-TCP/胶原组)作为对照,该研究结果显示 PTH1-34/β-TCP/胶原组较

β-TCP/胶原组明显促进骨缺损愈合。此外,PTH1-34 负载于磷酸八钙/胶原复合固态支架材料也可促进骨组织再生^[34-36]。鉴于锌、锶等元素可进一步促进骨组织再生,选用掺有锌、锶等活性金属的固态生物材料支架可能更具有临床价值^[37]。

3 甲状旁腺素相关肽在骨组织工程的原位应用

目前,持续性、小剂量 PTH 或 PTH1-34 的成骨相关细胞及分子机制尚未完全阐明,且成骨效果并不理想,近年来,构建成骨能力增强、破骨能力减弱的 PTHrPs 更具有应用前景。PTHrPs 指一系列与 PTH 类似并可通过激活 PTH1 型受体(PTH type 1 receptor, PTH1R)而发挥骨重构作用的活性多肽,包括 PTH1-34、PTHrP1、PTHrP2、PTHrP、PTHrP1-37、阿巴洛肽等。PTH 及 PTHrPs 主要通过氮端前 14 个氨基酸与 PTH1R 的跨膜区结合,第 15 个氨基酸以后的序列与 PTH1R 的氮端细胞外结构域结合,从而激活环磷酸腺苷-蛋白激酶 A 信号通路而发挥骨重构作用^[38]。常见的 PTHrPs 的氨基酸序列如表 1 所示。

3.1 甲状旁腺素相关肽 1 与甲状旁腺素相关肽 2

本课题组基于 PTH1-34,对氮端丝氨酸磷酸化,分别向碳端添加三个重复的酸性氨基酸序列 DDD 或 EEE,研发出了具有自主知识产权的专利多肽 PTHrP1 及 PTHrP2^[39-41]。对丝氨酸行磷酸化处理及添加酸性氨基酸赋予 PTH1-34 矿化能力,而 PTHrP1 与 PTHrP2 也可通过酸性氨基酸序列吸附于钙磷支架表面,更有利于暴露活性位点。研究表明,PTHrP1 负载于鼠尾胶原可诱导异位骨形成^[42],而 PTHrP1、PTHrP2 负载于钙磷支架材料可介导修复兔或大鼠临界尺寸骨缺损^[43-44]。通过改性,PTHrP1 及 PTHrP2 成骨活性增强而破骨活性减弱,这可能与改构后 PTHrP1 及 PTHrP2 与 PTH1R 的结合位点改变有关,但具体机制仍需进一步研究^[44]。

除将具有矿化黏附能力的 DDD 及 EEE 等共价

表 1 PTHrPs 及其氨基酸序列
Tab.1 PTHrPs and their amino acid sequences

| 名称 | 氨基酸序列 | 参考文献 |
|-----------|--|-------------|
| PTH1-34 | SVSEIQLMHNLGKHLNSMERVEWLRKKLQDVHNF | [48, 51] |
| PTHrP1 | ^P SVSEIQLMHNLGKHLNSMERVEWLRKKLQDVHNFDDD | [39, 41-43] |
| PTHrP2 | ^P SVSEIQLMHNLGKHLNSMERVEWLRKKLQDVHNFEEE | [40, 44] |
| PTHrP1-37 | AVSEHQLLHGKGSIQDLRRRFFLHHLIAEIHTAEIR | [48-49] |
| 阿巴洛肽 | AVSEHQLLHGKGSIQDLRRRELLEKLLXKLHTA | [48, 51] |

注: ^PS 为磷酸化丝氨酸, X 为 2-甲基丙氨酸

结合 PTH1-34, 亦可将其他具有生物学活性的短肽序列共价结合于碳端以探究新构建的 PTHrPs 是否具有相同的抑制破骨能力。根据可添加活性短肽的功能, 可以分为三类: 具有矿化功能的无机黏附肽 (如羟基磷灰石黏附肽^[45])、促成骨肽 (如成骨生长肽 10-14^[46])、抑破骨肽 (如 PTHrP107-111^[47])。但构建时应尽可能选择短肽, 因为较长的肽链可能影响 PTHrPs 的整体结构而影响生物学活性。

3.2 甲状旁腺素相关肽 1-36 与阿巴洛肽

PTHrP 是一种天然存在于人体但通过旁分泌或自分泌发挥骨重构作用的生物活性因子^[48-49]。PTHrP 与 PTH 有相似的氨基端, 均激活 PTH1R 发挥作用, 但两者下游通路存在差异。在结构上, PTH1R 存在两种构象, 分别为 G 蛋白依赖构象 (G-protein-dependent conformation, R_G) 及 G 蛋白非依赖构象 (G-protein-independent conformation, R₀)。当配体与 PTH1R (R_G) 结合时, 活环磷酸腺苷-蛋白激酶 A 信号通路激活时间较长, 从而产生较多的环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP); 而当配体与 PTH1R (R₀) 结合时, 活环磷酸腺苷-蛋白激酶 A 信号通路激活时间较短, 从而产生较少的 cAMP^[50]。PTH 与 PTHrP 对 PTH1R (R_G) 亲和力相近, 但 PTHrP 与 PTH1R (R₀) 的亲和力是 PTH 与 PTH1R (R₀ 构象) 亲和力的四分之一, 因此 PTHrP 诱导更少的 cAMP 生成, 从而避免细胞核因子 κ B 受体活化因子配基 (receptor activator of nuclear factor κ B ligand, RANKL) 过量生成并减低 PTH 的破骨效果^[51]。然而, PTHrP 高度不稳定, 而 PTHrP1-36 是 PTHrP 氮端活性序列^[49], PTHrP1-37 目前已用于骨缺损部位骨再生研究^[47]。阿巴洛肽是一种 PTHrP1-34 类似物, 与 PTHrP1-34 有 76% 的相似性, 与 PTH1-34 有 41% 的相似性, 于 2017 年 4 月得到 FDA 批准用于绝经后女性骨质疏松症治疗^[52-53]。相比于 PTHrP1-34, 第 22 ~ 34 氨基酸部分替换后结构更加稳定, 且诱导产生的 cAMP 含量低于 PTHrP^[51], 因此对阿巴洛肽的应用可能优于 PTHrP1-37。

与 PTH1-34、PTHrP1-36 相比, 阿巴洛肽成骨能力更强而破骨能力减弱^[50], 可能更适合未来骨组织工程研究。基于水凝胶负载 PTH 或 PTH1-34, Ning 等^[54]将阿巴洛肽负载于光诱导的甲基丙烯酸明胶水凝胶基质内, 该水凝胶体系可以促进小鼠胚胎成骨细胞前体细胞 (MC3T3-E1) 成骨分化及矿化。该研究表明, 移植入体内后, 负载有 2 mg/mL 及 4 mg/mL 阿巴洛肽的水凝胶均可明显诱导骨组

织生成, 而以 2 mg/mL 阿巴洛肽水凝胶体系成骨效果更优。相较于负载 PTH, 原位负载阿巴洛肽在未来骨组织工程中可能更具有潜力, 然而目前对阿巴洛肽原位负载促进缺损部位骨再生研究较少, 未来具有巨大的探索价值。

4 结论与展望

PTH 及 PTHrPs 是一类可用于临床骨缺损治疗及可替代 BMP-2 的理想活性因子。PTH 或 PTHrPs 若原位负载于支架材料用于骨缺损治疗, 可有效地弥补 iPTH 当前应用于临床所面临的挑战。PTH 及 PTHrPs 原位负载于支架材料尽管在修复骨缺损中具有显著疗效, 但研究目前尚处于动物实验阶段, 还存在诸多问题暂未能应用于临床治疗, 例如间歇性、小剂量及持续性、小剂量 PTH 发挥成骨作用的相关细胞及分子机制尚未完全阐明; 持续性、小剂量 PTH 发挥成骨作用时阈值是否存在, 若有, 其在人体中具体数值是多少? PTH 脉冲式释放支架在大动物及人体骨缺损中是否有效? 可负载 PTH 的最优水凝胶生物材料是什么? PTH 负载于水凝胶的方式, 以物理溶解的方式成骨作用更强, 还是以化学结合的方式成骨作用更强? 将 PTH 化学结合于水凝胶基生物材料时, 应以氮端相连接还是以碳端相连接? PTH 结合于水凝胶基生物材料时应以哪种连接体连接将尽可能保护 PTH 的成骨活性? 阿巴洛肽可否负载于其他水凝胶或固态支架材料促进局部临界尺寸骨缺损愈合? 可否将其他具有生物学活性的短肽共价结合于 PTH1-34 或阿巴洛肽碳端以构建新的 PTHrPs, 且这些新构建的 PTHrPs 是否具有原位应用于骨组织修复的潜力? 上述问题都值得科研人员进一步研究。

综上所述, 随着研究人员对 PTH 及 PTHrPs 的成骨作用机制研究的不断深入, 并进一步探明 PTH 及 PTHrPs 的负载方式及适宜支架材料, 将更有利于促进 PTH 及 PTHrPs 在骨组织工程中的临床应用。

利益冲突声明: 本文全体作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- 1 Chen C H, Hsu E L, Stupp S I. Supramolecular self-assembling peptides to deliver bone morphogenetic proteins for skeletal regeneration. *Bone*, 2020, 141: 115565.
- 2 Yu F, Xia W. The epidemiology of osteoporosis, associated fragility fractures, and management gap in China. *Arch Osteoporos*, 2019, 14(1): 32.
- 3 Cheng C, Wentworth K, Shoback D M. New frontiers in osteoporosis therapy. *Annu Rev Med*, 2020, 71: 277-288.
- 4 Compston J E, McClung M R, Leslie W D. Osteoporosis. *Lancet*,

- 2019, 393: 364-376.
- 5 Fang B, Qiu P, Xia C, *et al.* Extracellular matrix scaffold crosslinked with vancomycin for multifunctional antibacterial bone infection therapy. *Biomaterials*, 2021, 268: 120603.
 - 6 Tan W, Gao C, Feng P, *et al.* Dual-functional scaffolds of poly(L-lactic acid)/nanohydroxyapatite encapsulated with metformin: Simultaneous enhancement of bone repair and bone tumor inhibition. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, 120: 111592.
 - 7 Cui L, Xiang S, Chen D, *et al.* A novel tissue-engineered bone graft composed of silicon-substituted calcium phosphate, autogenous fine particulate bone powder and BMSCs promotes posterolateral spinal fusion in rabbits. *J Orthop Translat*, 2021, 26: 151-161.
 - 8 Plantz M A, Hsu W K. Recent research advances in biologic bone graft materials for spine surgery. *Curr Rev Musculoskelet Med*, 2020, 13(3): 318-325.
 - 9 Safari B, Aghanejad A, Rshangar L, *et al.* Osteogenic effects of the bioactive small molecules and minerals in the scaffold-based bone tissue engineering. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2021, 198: 111462.
 - 10 Halloran D, Durbano H W, Nohe A. Bone morphogenetic protein-2 in development and bone homeostasis. *J Dev Biol*, 2020, 8(3): 19.
 - 11 James A W, Lachaud G, Shen Jia, *et al.* A review of the clinical side effects of bone morphogenetic protein-2. *Tissue Eng Part B Rev*, 2016, 22(4): 284-297.
 - 12 Bhattarai H K, Shrestha S, Rokka K, *et al.* Vitamin D, calcium, parathyroid hormone, and sex steroids in bone health and effects of aging. *J Osteoporos*, 2020, 2020: 9324505.
 - 13 Arnold A, Dennison E, Kovacs C S, *et al.* Hormonal regulation of biomineralization. *Nat Rev Endocrinol*, 2021, 17(5): 261-275.
 - 14 Silva B C, Bilezikian J P. Parathyroid hormone: anabolic and catabolic actions on the skeleton. *Curr Opin Pharmacol*, 2015, 22: 41-50.
 - 15 Wein M N, Kronenberg H M. Regulation of bone remodeling by parathyroid hormone. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2018, 8(8): a031237.
 - 16 Wojda S J, Donahue S W. Parathyroid hormone for bone regeneration. *J Orthop Res*, 2018, 36(10): 2586-2594.
 - 17 Cohen A, Shiao S, Nair N, *et al.* Effect of teriparatide on bone remodeling and density in premenopausal idiopathic osteoporosis: a phase II trial. *J Clin Endocrinol Metab*, 2020, 105(10): e3540-e3556.
 - 18 Jiang L, Zhang W, Wei L, *et al.* Early effects of parathyroid hormone on vascularized bone regeneration and implant osseointegration in aged rats. *Biomaterials*, 2018, 179: 15-28.
 - 19 Yoshida W, Matsugami D, Murakami T, *et al.* Combined effects of systemic parathyroid hormone (1-34) and locally delivered neutral self-assembling peptide hydrogel in the treatment of periodontal defects: an experimental *in vivo* investigation. *J Clin Periodontol*, 2019, 46(10): 1030-1040.
 - 20 Pelled G, Lieber R, Avalos P, *et al.* Teriparatide (recombinant parathyroid hormone 1-34) enhances bone allograft integration in a clinically relevant pig model of segmental mandibulectomy. *J Tissue Eng Regen Med*, 2020, 14(8): 1037-1049.
 - 21 Dang Ming, Koh A J, Danciu T, *et al.* Preprogrammed long-term systemic pulsatile delivery of parathyroid hormone to strengthen bone. *Adv Healthc Mater*, 2017, 6(3): 1600901.
 - 22 Dang Ming, Koh A J, Jin X, *et al.* Local pulsatile PTH delivery regenerates bone defects via enhanced bone remodeling in a cell-free scaffold. *Biomaterials*, 2017, 114: 1-9.
 - 23 Yue S, He H, Li B, *et al.* Hydrogel as a biomaterial for bone tissue engineering: a review. *Nanomaterials (Basel)*, 2020, 10(8): 1511.
 - 24 Ding X, Zhao H, Li Y, *et al.* Synthetic peptide hydrogels as 3D scaffolds for tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev*, 2020, 160: 78-104.
 - 25 Wojda S J, Marozas I A, Anseth K S, *et al.* Thiol-ene hydrogels for local delivery of PTH for bone regeneration in critical size defects. *J Orthop Res*, 2020, 38(3): 536-544.
 - 26 Wojda S J, Marozas I A, Anseth K S, *et al.* Impact of release kinetics on efficacy of locally delivered parathyroid hormone for bone regeneration applications. *Tissue Eng Part A*, 2021, 27(3/4): 246-255.
 - 27 Arrighi I, Mark S, Alvisi M, *et al.* Bone healing induced by local delivery of an engineered parathyroid hormone prodrug. *Biomaterials*, 2009, 30(9): 1763-1771.
 - 28 Zou Z, Wang L, Zhou Z, *et al.* Simultaneous incorporation of PTH(1-34) and nano-hydroxyapatite into chitosan/alginate Hydrogels for efficient bone regeneration. *Bioact Mater*, 2021, 6(6): 1839-1851.
 - 29 Dubey N, Ferreira J A, Malda J, *et al.* Extracellular matrix/amorphous magnesium phosphate bioink for 3D bioprinting of craniomaxillofacial bone tissue. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12(21): 23752-23763.
 - 30 Singh Y P, Moses J C, Bhardwaj N, *et al.* Injectable hydrogels: a new paradigm for osteochondral tissue engineering. *J Mater Chem B*, 2018, 6(35): 5499-5529.
 - 31 Yu X, Wei M. Preparation and evaluation of parathyroid hormone incorporated CaP coating via a biomimetic method. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2011, 97(2): 345-354.
 - 32 Auersvald C M, Santos F R, Nakano M M, *et al.* The local administration of parathyroid hormone encourages the healing of bone defects in the rat calvaria: micro-computed tomography, histological and histomorphometric evaluation. *Arch Oral Biol*, 2017, 79: 14-19.
 - 33 Tao Z S, Zhou W S, Wu X J, *et al.* Single-dose local administration of parathyroid hormone (1-34, PTH) with β -tricalcium phosphate/collagen (β -TCP/COL) enhances bone defect healing in ovariectomized rats. *J Bone Miner Metab*, 2019, 37(1): 28-35.
 - 34 Iwai A, Kajii F, Tanaka H, *et al.* Bone regeneration by freeze-dried composite of octacalcium phosphate collagen and teriparatide. *Oral Dis*, 2018, 24(8): 1514-1521.
 - 35 Kajii F, Iwai A, Tanaka H, *et al.* Single-dose local administration of teriparatide with a octacalcium phosphate collagen composite enhances bone regeneration in a rodent critical-sized calvarial defect. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2018, 106(5): 1851-1857.
 - 36 Matsui K, Kawai T, Ezoe Y, *et al.* Segmental bone reconstruction by octacalcium phosphate collagen composites with teriparatide. *Tissue Eng Part A*, 2021, 27(9/10): 561-571.
 - 37 Neto A S, Fonseca A C, Abrantes J C, *et al.* Surface functionalization of cuttlefish bone-derived biphasic calcium phosphate scaffolds with polymeric coatings. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019, 105: 110014.
 - 38 Sutkeviciute I, Clark L J, White A D, *et al.* PTH/PTHrP receptor signaling, allostery, and structures. *Trends Endocrinol Metab*, 2019, 30(11): 860-874.
 - 39 Liang B, Huang J, Xu J, *et al.* Local delivery of a novel PTHrP via

- mesoporous bioactive glass scaffolds to improve bone regeneration in a rat posterolateral spinal fusion model. *RSC Adv*, 2018, 8(22): 12484-12493.
- 40 Shen Y F, Huang J H, Wang K Y *et al.* PTH derivative promotes wound healing via synergistic multicellular stimulating and exosomal activities. *Cell Commun Signal*, 2020, 18(1): 40.
- 41 Wang J, Li J, Yang L, *et al.* Dose-dependence of PTH-related peptide-1 on the osteogenic induction of MC3T3-E1 cells *in vitro*. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(17): e6637.
- 42 Wang Y, Wang J, Zheng J, *et al.* Ectopic osteogenesis by type I collagen loaded with a novel synthesized PTH-related peptide-1 *in vivo*. *J Biomed Mater Res A*, 2020, 108(1): 166-177.
- 43 Yang L, Huang J, Yang S, *et al.* Bone regeneration induced by local delivery of a modified PTH-derived peptide from nanohydroxyapatite/chitosan coated true bone ceramics. *ACS Biomater Sci Eng*, 2018, 4(9): 3246-3258.
- 44 Huang J, Lin D, Wei Z, *et al.* Parathyroid hormone derivative with reduced osteoclastic activity promoted bone regeneration via synergistic bone remodeling and angiogenesis. *Small*, 2020, 16(6): e1905876.
- 45 Ling C, Zhao W, Wang Z, *et al.* Structure-activity relationships of hydroxyapatite-binding peptides. *Langmuir*, 2020, 36(10): 2729-2739.
- 46 Qiao Y, Liu X, Zhou X, *et al.* Gelatin templated polypeptide co-cross-linked hydrogel for bone regeneration. *Adv Healthc Mater*, 2020, 9(1): e1901239.
- 47 Tang J, Yan D, Chen L, *et al.* Enhancement of local bone formation on titanium implants in osteoporotic rats by biomimetic multilayered structures containing parathyroid hormone (PTH)-related protein. *Biomed Mater*, 2020, 15(4): 045011.
- 48 Martin T J, Sims N A, Seeman E. Physiological and pharmacological roles of PTH and PTHrP in bone using their shared receptor, PTH1R. *Endocr Rev*, 2021, 42(4): 383-406.
- 49 Martin T J. Parathyroid hormone-related protein, its regulation of cartilage and bone development, and role in treating bone diseases. *Physiol Rev*, 2016, 96(3): 831-871.
- 50 Ardura J A, Portal-Núñez S, Alonso V, *et al.* Handling parathormone receptor type 1 in skeletal diseases: realities and expectations of abaloparatide. *Trends Endocrinol Metab*, 2019, 30(10): 756-766.
- 51 Bhattacharyya S, Pal S, Chattopadhyay N. Abaloparatide, the second generation osteoanabolic drug: molecular mechanisms underlying its advantages over the first-in-class teriparatide. *Biochem Pharmacol*, 2019, 166: 185-191.
- 52 Rachner T D, Hofbauer L C, Göbel A, *et al.* Novel therapies in osteoporosis: PTH-related peptide analogs and inhibitors of sclerostin. *J Mol Endocrinol*, 2019, 62(2): R145-R154.
- 53 Brommage R. New targets and emergent therapies for osteoporosis. *Handb Exp Pharmacol*, 2020, 262: 451-473.
- 54 Ning Z, Tan B, Chen B, *et al.* Precisely controlled delivery of abaloparatide through injectable hydrogel to promote bone regeneration. *Macromol Biosci*, 2019, 19(6): e1900020.

收稿日期: 2021-04-14 修回日期: 2021-06-15

本文编辑: 陈咏竹

(上接第 1027 页; *Continued from Page 1027*)

- 48 Spetzger U, Frasca M, König S A. Surgical planning, manufacturing and implantation of an individualized cervical fusion titanium cage using patient-specific data. *Eur Spine J*, 2016, 25(7): 2239-2246.
- 49 吴敏飞, 王洋, 矫健航, 等. 3D 打印椎间融合器在脊髓型颈椎病椎间盘摘除减压融合内固定术的应用效果. *中华骨与关节外科杂志*, 2019, 12(2): 98-101.
- 50 Siu T L, Rogers J M, LIN K, *et al.* Custom-made titanium 3-dimensional printed interbody cages for treatment of osteoporotic fracture-related spinal deformity. *World Neurosurg*, 2018, 111: 1-5.
- 51 夏天, 孙宇, 赵衍斌, 等. 3D 打印定制钛合金融合器在先天性颈椎侧凸畸形治疗中的应用. *中国脊柱脊髓杂志*, 2020, 30(9): 791-796.
- 52 Alam F, Varadarajan K M, Koo J H, *et al.* Additively manufactured polyetheretherketone (PEEK) with carbon nanostructure reinforcement for biomedical structural applications. *Adv Eng Mater*, 2020, 22(10): 2000483.
- 53 Li Y, Li L T, Ma Y G, *et al.* 3D-printed titanium cage with PVA-vancomycin coating prevents surgical site infections (SSIs). *Macromol Biosci*, 2020, 20(3): 1900394.

收稿日期: 2021-04-21 修回日期: 2021-09-03

本文编辑: 陈咏竹