

间充质干细胞在人半月板损伤修复中的潜在性应用

张 爽, 刘 石, 汪宇峰, 吕 婵, 李保玲, 王 萍, 丛 军, 朱志强

【摘 要】 半月板在维持膝关节正常功能方面具有重要作用,能够吸收冲击、稳定关节、提供营养。半月板自我愈合能力非常薄弱,一旦发生损伤,只能依靠部分切除或全切除手段进行修复,而传统切除术又会导致膝关节受力发生改变,进而增加早期骨关节炎发展的可能性。虽然当前仅进行有限的相关研究,但间充质干细胞为修复人膝关节半月板损伤的一种潜在治疗方法。文章总结了间充质干细胞在人类疾病中的应用,并证实移植了间充质干细胞患者的症状得到缓解。

【关键词】 骨关节炎; 间充质干细胞; 半月板损伤; 关节软骨

doi:10.3969/j.issn.2095-4174.2018.04.017

膝骨半月板为双凹盘状纤维软骨结构,能够稳定关节软骨、提供营养并吸收冲击^[1]。一般分为 3 个区:白区(内部 1/3 处,非血运期)、红-白区(相对于中部,由红区毛细血管终末支供血)、红区(血运区,具有丰富血管)。半月板缺少血管,血液供应差,营养主要由关节内滑液供给,因而,半月板损伤难以自愈。而临床上较多应用的部分或整体切除半月板手段,不仅扰乱膝骨内平衡,同时增大早期骨关节炎(osteoarthritis,OA)发生的危险^[2-3]。

作为一种新型治疗模式,间充质干细胞(MSCs)成为修复半月板损伤临床研究的热点。因其具有多潜能分化的特性,可同时向纤维软骨和关节软骨分化,且有强大的增殖能力,因而备受研究者的青睐^[4-5]。大量研究已经发表在再生医学领域,关注 MSCs 在关节软骨损伤修复的潜在治疗能力。PAK 等^[6]将体外扩增的骨髓 MSCs 经由关节腔注射入患有膝关节退行性疾病的 46 岁男性患者体内,实验结果显示,关节软骨得到显著性再生。PAK 等^[7]报道了 2 例 OA 患者通过关节腔内注射非扩增脂肪来源干细胞(ASCs),最终通过 MRI 评估得出结论,半月板纤维软骨体积得到显著增加。虽然 2 项研究均证实不同组织来源 MSCs 可重建半月板软骨,然而上述研究均没有提及半月板损伤的修复,因为重

建半月板软骨不一定需要修复半月板损伤,因而,寻找能够修复半月板损伤及改善症状的 MSCs 治疗方案尤为重要。目前,只有一少部分研究者能够检测 MSCs 在患者体内修复半月板损伤的相关情况^[8]。

1 MSCs 的特性及来源

MSCs 被称为多潜能干细胞,最早于 1987 年在骨髓组织中被发现并成功分离,能够从骨髓、滑膜及脂肪等多种组织中获得。MSCs 可分化为多胚层多类型细胞,如外胚层的神经细胞、上皮样细胞等,中胚层的脂肪细胞、软骨细胞、骨细胞等,内胚层的胰岛素分泌细胞、肝样细胞等^[9]。因其取材简便、来源广泛、操作简单而成为临床疾病治疗首选。MSCs 主要通过如下机制发挥治疗作用:可定向归巢到损伤部位;可分化为不同细胞类型;能够分泌为多种细胞因子,参与免疫反应;具有免疫抑制特性^[10]。骨髓为成体 MSCs 最受欢迎的资源之一,骨髓干细胞已被广泛应用于大量体内及体外研究中。然而,因新分离的人骨髓干细胞数量非常低(少于 0.01% 总的有核细胞)且移植损伤部位后仍保持成骨细胞特性等缺点,因此,严重限制其在修复疾病损伤的应用。

脂肪组织为 MSCs 的另一种资源,可通过吸脂手术轻松获得。相同体积下,脂肪组织包含更多的 MSCs^[11]。因脂肪组织中干细胞数量巨大,不需要进行细胞扩增便可满足重建要求的优点^[6-7],脂肪组织来源 MSCs 可有效用于重建 OA 患者的关

基金项目:哈尔滨体育学院院级课题(2017TJ009)

作者单位:哈尔滨体育学院科学研究中心,黑龙江 哈尔滨 150008

通信作者:朱志强 黑龙江省哈尔滨市南岗区大成街 1 号, zhiqiangzhu999@163.com, 13936160123

节软骨^[6]。

膝骨关节滑膜也可作为潜在的 MSCs 资源,能够增加半月板损伤后滑液中 MSCs^[12],自体滑膜 MSCs 能够用于修复软骨损伤。当前,只有 1 例临床研究利用三维组织工程支架将人来源滑膜 MSCs 用于修复软骨损伤,该研究于 2015 年 3 月完成^[13-14]。上述研究更为有力地证明了 MSCs 在半月板损伤修复和重建中的重要意义。

2 半月板损伤的分类

半月板损伤可分为多种模式及类型,如纵向垂直、水平垂直、放射状等^[15]。根据其损伤的分型可分为 3 级: 级表现为半月板内点状、圆形,稍高信号; 级较 级信号范围大,但危及关节面; 级伴有半月板形状改变^[16]。在人们意识到治疗膝骨关节会造成早期 OA 的不良反应之前,所有半月板损伤均通过切除手术进行修复。即使部分切除半月板,也只有少数情况能够改善损伤膝骨关节处症状,并伴随不良反应^[17]。

关于 MSCs 用于半月板损伤修复的替代治疗,不同级别半月板损伤是否会产生不同的修复效果仍是未知的。不同类别半月板损伤可能需要不同的治疗方法,如干细胞注射量的差异,干细胞移植后关节处固定时间上的差异或损伤处可能需要伴随部分半月板的切除。

3 MSCs 在人半月板损伤疾病的应用

当前,只有少量研究能够评估 MSCs 在半月板损伤疾病中修复的应用。2013 年 PAK 等^[18]对 32 例半月板损伤患者皮下注射胶原蛋白酶处理自体脂肪后获得的由血管基质片段(SVF)、富血小板血浆(PRP)、透明质酸及氯化钙组成的 ASCs 混合物,经由视觉模拟评分法(VAS)、功能性评级系数及 MRI 评估后得出结论,半月板损伤症状可通过如上治疗方式得到缓解。

2014 年 VANGSNESS 等^[8]对 55 例部分关节切除患者进行关节腔内注射 MSCs 的研究,实验组患者注射同种异体 MSCs,对照组患者注射透明质酸钠。通过 VAS 及 self-Lysholm 评估后得出结论,损伤症状得到缓解,1 年 MRI 的追踪检测证实经过 MSCs 治疗的患者半月板体积显著增加。

2014 年 PAK 等^[19]开展了关节腔内注射自体 ASCs 的研究,其中 ASCs 以 SVF、PRP、透明质酸和氯化钙组成混合物的形式注射,混合物在移植

当天注射到患者关节内,其后,患者分别在接受细胞移植后的 3, 7, 14, 28 d 继续进行 PRP 和氯化钙的注射,最终使得 1 例 32 岁女性半月板损伤患者的软骨得到重建。

2016 年 WHITEHOUSE 等^[20]对 5 例无血管半月板损伤患者进行干细胞为手段的治疗,自体骨髓 MSCs 接种在胶原包被的支架上,人 MSCs—胶原—支架被移植到 5 例患者的半月板损伤处。追踪 24 个月后,发现上述患者症状均得到显著性改善,其中 3 例症状消失,半月板损伤彻底治愈,而另外 2 例由于移植 15 个月后损伤症状仍未得到改善,需要接受后续半月板切除手术,上述患者均未发生不良反应^[20]。

4 MSCs 修复半月板损伤的机制

MSCs 能够抑制 T 细胞增殖及低水平表达主要组织相容性复合物(MHC、MHC),血管细胞黏附因子(VCAM-1),能够多潜能分化、参与旁分泌过程进行免疫调节^[21-22]。MSCs 注入膝关节后黏附在损伤半月板表面,为软骨提供营养并分泌生长因子、细胞因子,能够促进内生生长,促进祖细胞自我增殖,抑制软骨凋亡,能够在体内归巢、存活、分化为软骨细胞,能够产生细胞外基质及表达细胞外基质蛋白 collagen and ,促进半月板组织的重建,改善半月板^[23]。

5 展 望

当前,仅有少数几例 MSCs 成功治疗人半月板损伤的研究被报道。因而,在这种治疗方法进一步应用前,许多问题亟待解决。需要开展更多关于人的研究,需要对比分析多种不同来源 MSCs 的治疗效果,需要开展不同等级半月板损伤的治疗研究。

MSCs 治疗半月板损伤的机制仍不清晰,例如干细胞注射后带来的分泌因子及营养的效应^[24-25],干细胞注入关节腔后分化及迁移机制^[26-27],以及上述 2 种机制的结合。MSCs 分泌多种细胞因子、趋化因子、生长因子及外来因子^[28-29]。上述因子对于祖细胞的生长具有重要意义。另外,一些数据表明移植后的干细胞能够迁移到组织中并分化为组织特异细胞^[30]。MSCs 注射到关节腔后发生的改变需要进一步研究。临床研究显示,膝骨关节注射的 MSCs 仅存留在关节中^[31],最终 MSCs 在关节中的走向仍未知,MSCs 有可能存在于关节中,贴在病变部位上,也有可能整合到靶向组织中,延

长它们的存活^[32-33]。然而,当分泌不同营养因子后,未整合到组织中的 MSCs 可能会慢慢的被去除。适当的带有有效对照治疗临床研究方案的设计对于精准地评估 MSCs 重建半月板损伤非常必要。

6 总 结

综合性的论述证实 MSCs 具有先天性的治疗潜能,能够直接或非直接地用于软骨重建,因此,能够潜在地治疗半月板损伤并成为了一种新型治疗方法。半月板组织为一种重要的结构,能够为膝骨提供稳定性、缓解冲击力,为关节半月板带来营养。然而,一旦膝骨发生损伤,关节切除术为主要手段的治疗方法会诱发早期 OA。使用 MSCs 的重建治疗能够提供一种不会导致损伤膝骨关节出现 OA 的方法,对半月板损伤症状的缓解具有重要意义。

7 参考文献

- [1] 田林,戴七一,戴子一,等. 揉髌手法对兔膝关节炎模型软骨组织的影响[J]. 风湿病与关节炎,2017,6(10):68-73.
- [2] SHELBOURNE KD,CARR DR.Menisal repair compared with meniscectomy for bucket-handle medial meniscal tears in the anterior cruciate ligament-reconstructed knees[J]. Am J Sports Med,2003,31(5):718-723.
- [3] 侯立刚,杨建义. 组织工程技术修复半月板损伤:从基础到临床的差距[J]. 中国组织工程研究,2016,11(20):1651-1657.
- [4] YU H,ADESIDA AB,JOMHA NM.Meniscus repair using mesenchymal stem cells-a comprehensive review[J]. Stem Cell Res Ther,2015,6(1):86.
- [5] 卫旭东,党源,胡德庆. 间充质干细胞在软骨损伤修复中的研究进展[J]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版),2017,7(3):178-184.
- [6] PAK J,LEE JH,KARTOLO WA,et al.Cartilage regeneration in human with adipose tissue-derived stem cells:current status in clinical implications[J]. Bio-med Res Int,2016,2016(1):4702674.
- [7] PAK J.Regeneration of human bones in hip osteonecrosis and human cartilage in knee osteoarthritis with autologous adipose-tissue-derived stem cells:a case series[J]. J Med Case Rep,2011,5(7):296.
- [8] VANGSNESS CT JR,FARR J,BOYD J,et al.Adult human mesenchymal stem cells delivered via intra-articular injection to the knee following partial medial meniscectomy:a randomized,double-blind,controlled study[J]. J Bone Joint Surg Am,2014,96(2):90-98.
- [9] 韩忠朝,王伟强. 间充质干细胞的生物学特性及临床应用[J]. 中国科学:生命科学,2017,47(12):1404-1409.
- [10] SHARMA RR,POLLOCK K,HUBEL A,et al.Mesenchymal stem or stromal cells:a review of clinical applications and manufacturing practices[J]. Transfusion,2014,54(5):1418-1437.
- [11] BAER PC,GEIGER H.Adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells:tissue localization,characterization,and heterogeneity[J]. Stem Cells Int,2012,2012:812693.
- [12] 陈琦,廖文波. 滑膜间充质干细胞修复膝关节软骨损伤的应用与进展[J]. 中国组织工程研究,2015,19(36):5886-5891.
- [13] SHIMOMURA K,ANDO W,MORIGUCHI Y,et al.Next generation mesenchymal stem cell(MSC)-based cartilage repair using scaffold-free tissue engineered constructs generated with synovial mesenchymal stem cells[J]. Cartilage,2015,6(2 Suppl):13S-29S.
- [14] YASUI Y,ANDO W,SHIMOMURA K,et al.Scaffold-free,stem cell-based cartilage repair[J]. J Clin Orthop Trauma,2016,7(3):157-163.
- [15] WADHWA V,OMAR H,COYNER K,et al.ISAKOS classification of meniscal tears-illustration on 2D and 3D isotropic spin echo MR imaging[J]. Eur J Radiol,2016,85(1):15-24.
- [16] 金昕,石仕元,赖震,等. 半月板损伤的诊治进展[J]. 浙江中西医结合杂志,2016,26(9):870-873.
- [17] HAN SB,SHETTY GM,LEE DH,et al.Unfavorable results of partial meniscectomy for complete posterior medial meniscus root tear with early osteoarthritis:a 5-to 8-year follow-up study[J]. Arthroscopy,2010,26(10):1326-1332.
- [18] PAK J,CHANG JJ,LEE JH,et al.Safety reporting on implantation of autologous adipose tissue-derived stem cells with platelet-rich plasma into human articular joints[J]. BMC Musculoskelet Disord,2013(14):337.
- [19] PAK J,LEE JH,LEE SH.Regenerative repair of damaged meniscus with autologous adipose tissue-derived stem cells[J]. Biomed Res Int,2014,2014(1):436029.
- [20] WHITEHOUSE MR,HOWELLS NR,PARRY MC,et al.Repair of torn avascular meniscal cartilage using undifferentiated autologous mesenchymal stem cells:from in vitro optimization to a first-in-human study[J]. Stem Cell Transl Med,2017,6(4):1237-1248.

- [21] WU Y,ZHOU J,BI L,et al.Effects of bone marrow mesenchymal stem cells on the cardiac function and immune system of mice with endotoxemia [J] .Mol Med Rep,2016,13 (6) :5317-5325.
- [22] PARK A,BARRERA-RAMIREZ J,RANASINGHE I,et al. Use of statins to augment progenitor cell function in preclinical and clinical studies of regenerative therapy:a systematic review [J] .Stem Cell Rev,2016,12 (3) :327-339.
- [23] YUBO M,YANYAN L,LI L,et al.Clinical efficacy and safety of mesenchymal stem cell transplantation for osteoarthritis treatment:A meta-analysis [J] .PLoS One,2017,12 (4) :e0175449.
- [24] NAKAGAMI H,MAEDA K,MORISHITA R,et al.Novel autologous cell therapy in ischemic limb disease through growth factor secretion by cultured adipose tissue-derived stromal cells [J] .Arterioscler Thromb Vasc Biol,2005,25 (12) :2542-2547.
- [25] CAI L,JOHNSTONE BH,COOK TG,et al.Suppression of hepatocyte growth factor production impairs the ability of adipose-derived stem cells to promote ischemic tissue revascularization [J] .Stem Cells,2007,25 (12) :3234-3243.
- [26] MIZUNO K,MUNETTA T,MORITO T,et al.Exogenous synovial stem cells adhere to defect of meniscus and differentiate into cartilage cells [J] .J Med Dent Sci,2008,55 (1) :101-111.
- [27] ONG E,CHIMUTENGWENDE GM,KHAN W.Stem cell therapy for knee ligament,articular cartilage and meniscal injuries [J] .Curr Stem Cell Res Ther,2013,8 (6) :422-428.
- [28] CAPLAN AI,DENNIS JE.Mesenchymal stem cells as trophic mediators [J] .J Cell Biochem,2006,98 (5) :1076-1084.
- [29] YEO RWY,CHAI R,HIAN K,et al.Exosome:a novel and safer therapeutic refinement of mesenchymal stem cell [J] .Intech,2013,1 (7) :1-12.
- [30] FERRO F,SPELAT R,FALINI G,et al.Adipose tissue-derived stem cell in vitro differentiation in a three-dimensional dental bud structure [J] .Am J Pathol,2011,178 (5) :2299-2310.
- [31] HORIE M,SEKIYA I,MUNETTA T,et al.Intra-articular Injected synovial stem cells differentiate into meniscal cells directly and promote meniscal regeneration without mobilization to distant organs in rat massive meniscal defect [J] .Stem Cells,2009,27 (4) :878-887.
- [32] KOH YG,CHOI YJ.Infrapatellar fat pad-derived mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis [J] .Knee,2012,19 (6) :902-907.
- [33] KOH YG,KWON OR,KIM YS,et al.Comparative outcomes of open-wedge high tibial osteotomy with platelet-rich plasma alone or in combination with mesenchymal stem cell treatment:a prospective study [J] .Arthroscopy,2014,30 (11) :1453-1460.

收稿日期：2017-10-12；修回日期：2018-01-16