

• 综述 •

脂肪间充质干细胞治疗膝关节骨关节炎应用进展

周立波 李克文 张国秋

摘要 膝关节骨关节炎(KOA)的特征是关节透明软骨局灶性丧失,滑膜组织炎症伴骨赘形成。目前KOA的治疗方法虽可在一定程度上减轻患者疼痛并改善关节活动度,但不能促进受损关节的软骨再生。脂肪间充质干细胞作为种子细胞,可用于KOA治疗中修复受损的关节软骨,为KOA治疗提供了一种新思路。该文对脂肪间充质干细胞治疗KOA的研究进展进行综述。

关键词 膝关节骨关节炎;脂肪间充质干细胞;软骨损伤修复

DOI: 10.3969/j.issn.1673-7083.2022.01.013

骨关节炎(OA)是骨科常见疾病,也是引起老年人膝关节疼痛、功能减退和残疾的主要原因^[1]。膝关节骨关节炎(KOA)作为常见的OA类型^[2],其发病率逐年升高。由于关节软骨无血运,自我修复受到限制,最终导致进行性软骨丢失和关节退行性变^[3]。目前KOA治疗方法包括保守治疗(功能锻炼、药物治疗、关节内注射激素)和手术治疗^[4-6]。尽管这些治疗方法可在一定程度上减轻患者的疼痛症状及改善关节活动度,但并不能促进受损关节软骨的再生^[7]。以干细胞为基础的治疗方法已逐渐应用于关节软骨的修复和再生,并取得一定效果。脂肪间充质干细胞(ADMSC)作为种子细胞,具有成软骨潜能、自我更新能力和免疫调节能力,使其成为KOA治疗中可修复受损软骨的理想工具^[8]。

1 ADMSC的特征及应用基础

ADMSC可使组织修复的机制主要表现在以下方面:①可以分化为目标细胞,修复受损伤区域;②具有旁分泌作用,能够向邻近细胞分泌各种细胞因子和生长因子,促进受伤组织血管化和细胞增殖;③具有免疫调节作用,可以降低受损组织的炎症反应^[9]。有学者认为,ADMSC在免疫抑制、防止OA病情进展方面的表现更为突出^[10]。与骨髓间充质干细胞(MSC)相比,ADMSC具有以下优势:

①免疫原性低,无伦理问题,受供体年龄影响小;②更易获取且并发症发生率低;③长期培养遗传性能更稳定,增殖速度更快;④脂肪组织中间充质干细胞的数量和质量明显高于其它来源组织^[11]。

2 ADMSC治疗KOA的临床应用

2.1 局部注射

局部注射ADMSC是治疗KOA最常用、最简便的方法^[12],可缓解疼痛、改善功能,其优势在于操作简便、可重复进行、创伤小。

为比较不同剂量ADMSC对KOA的疗效,Jo等^[13]对18例KOA患者采用不同剂量的自体ADMSC进行关节腔注射治疗。他们将患者随机分为低剂量组(剂量为 1.0×10^7 个细胞)、中剂量组(剂量为 5.0×10^7 个细胞)和高剂量组(剂量为 1.0×10^8 个细胞)进行治疗,治疗后6个月时显示,高剂量组患者的临床症状明显改善,关节镜和组织学检查均显示软骨再生情况明显优于其它两组。他们又进行了2年的随访研究,结果发现,高剂量组患者临床疗效趋于稳定,而中、低剂量组临床疗效在1年后趋于恶化。该研究提示,ADMSC关节腔注射治疗时细胞数量与治疗效果呈正相关^[14]。另一项研究将18例重度KOA患者随机分为低剂量组(2.0×10^6 个细胞)、中剂量组(1.0×10^7 个细胞)和高剂量组(5.0×10^7 个细胞)接受ADMSC关节腔注射治疗,结果显示低剂量组患者临床疗效明显优于其他两组。该研究认为,此结果可能由于

作者单位:810001 西宁,青海大学附属医院关节外科

通信作者:张国秋 E-mail:532501025@qq.com

低剂量组患者最初炎症水平较高,而治疗后炎症改善更明显,临床症状缓解也更显著^[15]。目前的研究证据表明,ADMSC 局部注射治疗的疗效与注射剂量相关,采用高剂量可获得更佳的疗效。

有学者对 ADMSC 治疗 KOA 时采用多次膝关节注射与单次膝关节注射的治疗效果进行比较研究。Freitag 等^[16]将 30 例 KOA 患者随机分为 3 组,治疗组 1 接受单次膝关节 ADMSC 注射(剂量为 1.0×10^8 个细胞),治疗组 2 接受 2 次膝关节 ADMSC 注射(间隔 6 个月,每次剂量为 1.0×10^8 个细胞),对照组采用保守治疗。治疗后 12 个月时显示,与对照组相比,关节内注射 ADMSC 的患者临床症状均显著改善,其中接受 2 次注射的患者获得更佳的临床疗效。该研究结果不仅证实增加 ADMSC 注射频次可获得更好的临床疗效,同时也表明使用较高剂量(1.0×10^8 个细胞)的 ADMSC 治疗 KOA 是安全的。另一项研究首次在临床试验中对 18 例 KOA 患者进行 3 次关节内自体 ADMSC 注射治疗。受试者被随机分为低剂量组(1.0×10^7 个细胞)、中剂量组(2.0×10^7 个细胞)和高剂量组(5.0×10^7 个细胞),2 年随访结果显示,高剂量组患者膝关节功能和生活质量均得到长期改善,且软骨厚度增加程度较低、中剂量组更显著。该研究团队认为,接受高剂量的关节内自体 ADMSC 注射治疗且间隔一定时间进行重复注射,对 KOA 患者的疗效是肯定的。不过,该研究的样本量较小且无对照组,可能影响试验结果的准确性^[11]。目前关于关节内 ADMSC 多次注射与单次注射的临床比较研究较少,还需要更多的研究结果加以验证。

既往研究已证实,自体 ADMSC 治疗 KOA 具有确切效果,为了更好地验证同种异体 ADMSC 的疗效与安全性,2020 年 Lu 等^[17]突破性采用同种异体 ADMSC 行关节内注射治疗。他们将 22 例轻、中度 KOA 患者随机分为 3 组,分别采用低剂量(1×10^7 个细胞)、中剂量(2×10^7 个细胞)、高剂量(5×10^7 个细胞)ADMSC 治疗,所有患者均接受 2 次双侧关节内注射。I 期试验结果显示,3 组患者的疼痛视觉模拟评分(VAS)、健康调查简表(SF-36)评分、西安大略和麦克马斯特大学骨关节炎指数(WOMAC)均明显改善,表明关节内注射同种异体 ADMSC 治疗 KOA 安全有效。不过,针对同种异体 ADMSC 治疗 KOA 的研究较少,尚需开展更大规模的临床试验加以证实。

2.2 支架材料复合 ADMSC 治疗 KOA

治疗 KOA 时,需将相应支架植入软骨缺损区域,以达到三维立体增殖培养的目的,同时植入的支架也能够诱导种子细胞的定向分布,以促使软骨功能及形态的修复。有学者认为,支架材料的选取在治疗 KOA 的过程中具有重要意义,材料不同治疗效果也存在差异。

纤维蛋白胶是由纤维蛋白原和凝血酶组成的天然高分子物质,可作为组织再生的三维微结构。Jung 等^[18]开展体内生成软骨的探索性研究,他们将人脂肪间充质干细胞(hADMSC)分化的软骨源性干细胞与纤维蛋白胶混合后皮下注射于裸鼠背部,发现裸鼠皮下层形成新的软骨。该实验表明,纤维蛋白胶支架可为 ADMSC 增殖提供新的基质,促进 ADMSC 分化为软骨细胞形成软骨。纤维蛋白胶支架的应用为开发有效的人工软骨提供了基础。

转化生长因子(TGF)- $\beta 3$ 是软骨生成过程中最重要的生长因子,TGF- $\beta 3$ 与 ADMSC 联合应用在体内外均能诱导 ADMSC 分化为软骨细胞,这些软骨细胞具有与成熟软骨细胞相同的 II 型胶原表达^[19]。聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)微球支架拥有良好的缓释性和生物相容性,更有利于维持干细胞的存活、生长以及 TGF- $\beta 3$ 的持续释放,为此 Sun 等^[20]采用含有 hADMSC 和 TGF- $\beta 3$ 的 PLGA 微球支架治疗兔 OA 模型。他们将 30 只 OA 模型兔随机分为 3 组,联合治疗组同时注射含 hADMSC 和 TGF- $\beta 3$ 的 PLGA 微球支架,hADMSC 组注射 hADMSC,对照组注射生理盐水。注射后 12 周,组织学分析表明,联合治疗组软骨修复效果最好,其次是 hADMSC 组,对照组软骨修复最差,且联合治疗组的 II 型胶原蛋白和聚集蛋白聚糖的基因表达均显著上调。研究结果证实,hADMSC、TGF- $\beta 3$ 和 PLGA 微球支架的联合使用可显著促进关节软骨再生,减轻 OA 严重程度。

Pak 等^[21]将 ADMSC 和细胞外基质(ECM)联合透明质酸、富血小板血浆(PRP)注射于 3 例 KOA 患者膝关节内,连续注射 3 周,发现 3 例患者的临床症状均较治疗前显著改善,磁共振成像(MRI)检查均显示软骨样组织再生。该研究显示,ADMSC 和 ECM 联合透明质酸、PRP 注射是一种安全有效的微创治疗方法,可用于治疗 KOA。但该研究仅包含 3 例患者,且仅使用 MRI 检查进行评估,而缺乏对关节软骨的组织学分析,其临床

应用效果尚需进一步证实。

关于支架材料联合 ADMSC 治疗 KOA 的临床报道不多,但目前的研究结果表明,支架材料联合 ADMSC 植入患者受损的关节软骨处,可获得组织病理学改善和软骨组织再生。

2.3 ADMSC 外泌体对 KOA 的作用

外泌体是直径 50 ~ 150 nm, 内含核酸、脂质、蛋白质等多种活性物质的小脂质双层膜囊泡^[22]。ADMSC 来源外泌体的生物学效应与 ADMSC 相似,但可弥补直接细胞移植的缺点,为其在骨关节疾病中的临床应用提供了可能。骨髓间充质干细胞来源的外泌体已用于 KOA 治疗,而 ADMSC 外泌体治疗 KOA 的研究报道很少。Tofiño-Vian 等^[23]通过体外实验观察 ADMSC 微囊泡和外泌体对 KOA 软骨细胞的作用。结果显示,ADMSC 外泌体可减少 OA 软骨细胞中肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白细胞介素(IL)-6 等炎症因子的产生,明显增加抗炎因子 IL-10 产生和 II 型胶原表达。此外,ADMSC 外泌体可以减少前列腺素 E2 生成并降低基质金属蛋白酶(MMP)活性和 MMP-13 的表达。因此,ADMSC 外泌体能有效降低软骨细胞中炎症细胞因子的产生,增加软骨细胞 ECM 成分的表达,最终促进软骨组织再生,其可作为 KOA 软骨修复的替代疗法。有学者单独分离出 ADMSC 外泌体验证其抗炎作用并解释其成软骨机制。Zhao 等^[24]开展相关研究,他们首先测试患者来源的 ADMSC 是否可以分化为软骨源性谱系,他们检测到细胞中软骨分化的指标(糖胺聚糖),表明研究中的 ADMSC 是多能的。随后他们自 ADMSC 中分离出外泌体,与活化的滑膜成纤维细胞共培养后发现,ADMSC 外泌体可下调细胞的 IL-6、TNF- α 和核因子- κ B 水平,上调 IL-10 水平,同时可明显降低软骨细胞凋亡,且当 ADMSC 与外泌体共同培养时,ADMSC 具有更高的分化潜能,包括成软骨、成骨和成脂肪分化。这些结果提示 ADMSC 外泌体在促进 KOA 的软骨再生和抗炎方面具有巨大潜力。

对于 ADMSC 外泌体治疗 KOA 的安全性和疗效的更多认识,尚需开展进一步的体内研究试验。

3 结语

综上所述,ADMSC 在 KOA 临床治疗中取得一定效果,但相关研究仍处于初级阶段,存在以下一些待解决问题:① ADMSC 注射治疗 KOA 的短期疗效显著,但长期疗效有待进一步观察;② 治

疗所需 ADMSC 的最大安全剂量尚需进一步探索;③ 支架存在免疫原性、支架降解产物的长期安全性、引起感染或疾病传播风险等问题。此外,对于外泌体治疗 KOA 的作用机制应开展更多研究。

参考文献

- [1] Cao P, Li Y, Tang Y, et al. Pharmacotherapy for knee osteoarthritis: current and emerging therapies[J]. Expert Opin Pharmacother, 2020, 21(7): 797-809.
- [2] Primorac D, Molnar V, Matisić V, et al. Comprehensive review of knee osteoarthritis pharmacological treatment and the latest professional societies' guidelines[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2021, 14(3): 205.
- [3] Biazzo A, D'ambrosi R, Masia F, et al. Autologous adipose stem cell therapy for knee osteoarthritis: where are we now?[J]. Phys Sportsmed, 2020, 48(4): 392-399.
- [4] Kan HS, Chan PK, Chiu KY, et al. Non-surgical treatment of knee osteoarthritis[J]. Hong Kong Med J, 2019, 25(2): 127-133.
- [5] Primorac D, Molnar V, Rod E, et al. Knee osteoarthritis: a review of pathogenesis and state-of-the-art non-operative therapeutic considerations[J]. Genes (Basel), 2020, 11(8): 854.
- [6] Healy WL, Della Valle CJ, Iorio R, et al. Complications of total knee arthroplasty: standardized list and definitions of the Knee Society[J]. Clin Orthop Relat Res, 2013, 471(1): 215-220.
- [7] Zhu C, Wu W, Qu X. Mesenchymal stem cells in osteoarthritis therapy: a review[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(2): 448-461.
- [8] Ritter A, Friemel A, Roth S, et al. Subcutaneous and visceral adipose-derived mesenchymal stem cells: commonality and diversity[J]. Cells, 2019, 8(10): 1288.
- [9] Torres-Torrillas M, Rubio M, Damia E, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells: a promising tool in the treatment of musculoskeletal diseases[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(12): 3105.
- [10] Waldner M, Zhang W, James IB, et al. Characteristics and immunomodulating functions of adipose-derived and bone marrow-derived mesenchymal stem cells across defined human leukocyte antigen barriers[J]. Front Immunol, 2018, 9(3): 1642.
- [11] Song Y, Du H, Dai C, et al. Human adipose-derived mesenchymal stem cells for osteoarthritis: a pilot study with long-term follow-up and repeated injections[J]. Regen Med, 2018, 13(3): 295-307.
- [12] Lopa S, Colombini A, Moretti M, et al. Injective mesenchymal stem cell-based treatments for knee osteoarthritis: from mechanisms of action to current clinical evidences[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2019, 27(6): 2003-2020.
- [13] Jo CH, Lee YG, Shin WH, et al. Intra-articular injection of mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis of the knee: a proof of concept clinical trial[J]. Stem Cells, 2014, 32(5): 1254-1266.
- [14] Hyunchul C, Chai JW, Jeong EC, et al. Intra-articular injection of mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis of the knee: a 2-year follow-up study[J]. Am J Sports Med, 2017, 45(12): 2774-2783.
- [15] Pers YM, Rackwitz L, Ferreira R, et al. Adipose mesenchymal

- stromal cell-based therapy for severe osteoarthritis of the knee: a phase I dose-escalation trial[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(7): 847-856.
- [16] Freitag J, Bates D, Wickham J, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cell therapy in the treatment of knee osteoarthritis: a randomized controlled trial[J]. *Regen Med*, 2019, 14(3): 213-230.
- [17] Lu L, Dai C, Du H, et al. Intra-articular injections of allogeneic human adipose-derived mesenchymal progenitor cells in patients with symptomatic bilateral knee osteoarthritis: a phase I pilot study[J]. *Regen Med*, 2020, 15(5): 1625-1636.
- [18] Jung SN, Rhie JW, Kwon H, et al. In vivo cartilage formation using chondrogenic-differentiated human adipose-derived mesenchymal stem cells mixed with fibrin glue[J]. *J Craniofac Surg*, 2010, 21(2): 468-472.
- [19] Sheykhasan M, Qomi RT, Ghiasi M. Fibrin scaffolds designing in order to human adipose-derived mesenchymal stem cells differentiation to chondrocytes in the presence of TGF- β 3[J]. *Int J Stem Cells*, 2015, 8(2): 219-227.
- [20] Sun Q, Zhang L, Xu T, et al. Combined use of adipose derived stem cells and TGF- β 3 microspheres promotes articular cartilage regeneration in vivo[J]. *Biotech Histochem*, 2018, 93(3): 168-176.
- [21] Pak J, Lee JH, Park KS, et al. Regeneration of cartilage in human knee osteoarthritis with autologous adipose tissue-derived stem cells and autologous extracellular matrix[J]. *Biores Open Access*, 2016, 5(1): 192-200.
- [22] El Andaloussi S, Mäger I, Breakefield XO, et al. Extracellular vesicles: biology and emerging therapeutic opportunities[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12(5): 347-357.
- [23] Tofiño-Vian M, Guillén MI, Pérez DM, et al. Microvesicles from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a new protective strategy in osteoarthritic chondrocytes[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(1): 11-25.
- [24] Zhao C, Chen JY, Peng WM, et al. Exosomes from adipose-derived stem cells promote chondrogenesis and suppress inflammation by upregulating miR-145 and miR-221[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21(4): 1881-1889.

(收稿日期 : 2021-09-01)

(本文编辑 : 杨晓娟)

(上接第 50 页)

- [16] Lunn MP, Hughes RA, Wiffen PJ. Duloxetine for treating painful neuropathy, chronic pain or fibromyalgia[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014, (1): CD007115.
- [17] Baliki MN, Geha PY, Jabakhanji R, et al. A preliminary fMRI study of analgesic treatment in chronic back pain and knee osteoarthritis[J]. *Mol Pain*, 2008, 4: 47.
- [18] Gwilym SE, Keltner JR, Warnaby CE, et al. Psychophysical and functional imaging evidence supporting the presence of central sensitization in a cohort of osteoarthritis patients[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 61(9): 1226-1234.
- [19] Dell'isola A, Allan R, Smith SL, et al. Identification of clinical phenotypes in knee osteoarthritis: a systematic review of the literature[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2016, 17(1): 425.
- [20] Attur M, Belitskaya-Lévy I, Oh C, et al. Increased interleukin-1 β gene expression in peripheral blood leukocytes is associated with increased pain and predicts risk for progression of symptomatic knee osteoarthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(7): 1908-1917.
- [21] Kohler O, Krogh J, Mors O, et al. Inflammation in depression and the potential for anti-inflammatory treatment[J]. *Curr Neuropsychopharmacol*, 2016, 14(7): 732-742.
- [22] Iyengar RL, Gandhi S, Aneja A, et al. NSAIDs are associated with lower depression scores in patients with osteoarthritis[J]. *Am J Med*, 2013, 126(11): 1017.e11-8.
- [23] Sharma A, Kudesia P, Shi Q, et al. Anxiety and depression in patients with osteoarthritis: impact and management challenges[J]. *Open Access Rheumatol*, 2016, 8: 103-113.
- [24] Zhang LJ, Fu T, Zhang QX, et al. Effects of psychological interventions for patients with osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis[J]. *Psychol Health Med*, 2018, 23(1): 1-17.
- [25] Katon W, Lin EH, Kroenke K. The association of depression and anxiety with medical symptom burden in patients with chronic medical illness[J]. *Gen Hosp Psychiatry*, 2007, 29(2): 147-155.
- [26] 梁欣, 王恒, 李显蓉. 阿普唑仑治疗焦虑抑郁患者全膝关节置换后疼痛的安全有效性 [J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(7): 985-992.
- [27] Martin C, Garbacz M, Bracard S. Pain management in subarachnoid hemorrhages[J]. *Soins*, 2015, (801): 19-21.
- [28] Millar L. Psychoactive substance dependence: a dentist's challenge[J]. *Prim Dent J*, 2015, 4(2): 49-54.
- [29] 张家玉, 周小莉. 独活寄生合剂联合心理干预对膝关节炎患者负性情绪的影响 [J]. *中国中医急症*, 2015, 24(5): 801-802.

(收稿日期 : 2021-10-06)

(本文编辑 : 杨晓娟)