

间充质干细胞治疗骨关节炎软骨损伤：作用、应用与问题

<https://doi.org/10.12307/2021.150>

王新伟, 赵英杰, 常 艳, 魏 伟

投稿日期: 2020-05-08

送审日期: 2020-05-13

采用日期: 2020-09-05

在线日期: 2021-01-18

中图分类号:

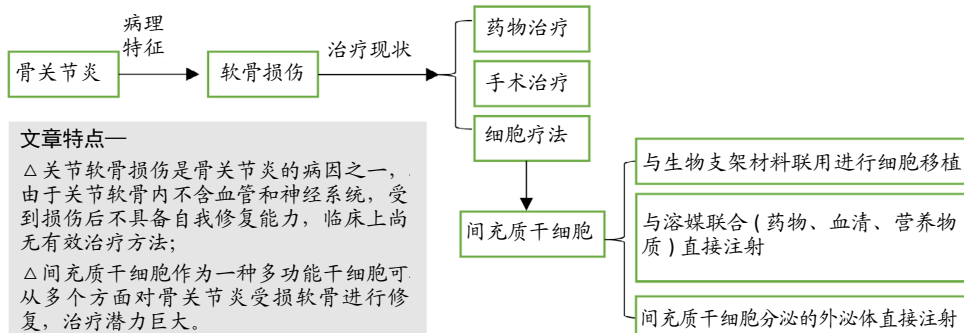
R459.9; R318; R684.3

文章编号:

2095-4344(2021)31-05053-06

文献标识码: A

文章快速阅读:



文题释义:

间充质干细胞: 是一种具有自我更新和多向分化潜能的干细胞, 最初于骨髓中被发现, 现可来源于多种组织, 生物学性能稳定。

骨关节炎软骨损伤: 骨关节炎是一种关节退行性疾病, 临床表现为慢性关节疼痛、关节僵硬和关节肿胀。骨关节炎的主要病理特征是关节软骨的退行性病变, 随着年龄的增长以及其他因素如慢性劳损、肥胖和创伤等导致关节软骨受损, 进一步发展为关节软骨病变, 演变为骨关节炎。关节软骨是一种结构组成特殊的结缔组织, 关节软骨内不含血管和神经系统, 受到损伤后不具备自我修复能力。目前的治疗方式包括药物、手术和自体软骨细胞移植, 但只能起到缓解作用, 对软骨的再生效果很弱。间充质干细胞可实现关节软骨再生, 为治疗骨关节炎软骨损伤提供了新的选择。

摘要

背景: 间充质干细胞来源广泛、易于分离培养, 并且具有多向分化、组织修复、抗炎和免疫调节功能, 为治疗骨关节炎软骨损伤提供新的途径。

目的: 对间充质干细胞治疗骨关节炎软骨损伤的应用和研究方面作一综述。

方法: 由第一作者以“osteoarthritis, cartilage damage, mesenchymal stem cell, treatment”为英文关键词, 以“间充质干细胞, 骨关节炎, 软骨损伤, 治疗”为中文关键词, 检索2000至2020年期间收录在 PubMed和中国知网数据库中的相关文献, 排除与文章研究目的无关及重复性的文献, 对纳入符合标准的50篇文献进行综述。

结果与结论: ①组织工程方法将间充质干细胞的多向分化功能和生物支架材料的特性结合, 能够更好地促进受损软骨的修复, 已在基础研究和临床研究上取得了众多成果; ②间充质干细胞与溶媒联合关节腔注射可以充分发挥间充质干细胞的治疗作用, 而且可以将间充质干细胞的优点扩大; ③间充质干细胞外泌体治疗骨关节炎软骨损伤目前还停留在临床前动物研究阶段, 但有希望成为骨关节炎软骨损伤治疗的新手段。

关键词: 干细胞; 间充质干细胞; 骨关节炎; 软骨损伤; 治疗; 组织工程; 综述

Mesenchymal stem cells in the treatment of cartilage damage in osteoarthritis: role, application, and problem

Wang Xinwei, Zhao Yingjie, Chang Yan, Wei Wei

Institute of Clinical Pharmacology, Anhui Medical University; Key Laboratory of Antiinflammatory and Immune Medicine, Ministry of Education; Anhui University Collaborative Innovation Center for Antiinflammatory and Immune Drugs; Hefei 230032, Anhui Province, China

安徽医科大学临床药理研究所, 抗炎免疫药物教育部重点实验室, 安徽省高校抗炎免疫药物协同创新中心, 安徽省合肥市 230032

第一作者: 王新伟, 男, 1995年生, 安徽省六安市人, 汉族, 安徽医科大学在读硕士, 主要从事骨关节炎软骨损伤修复与间充质干细胞临床应用研究。

通讯作者: 常艳, 博士, 教授, 安徽医科大学临床药理研究所, 抗炎免疫药物教育部重点实验室, 安徽省高校抗炎免疫药物协同创新中心, 安徽省合肥市 230032

共同通讯作者: 魏伟, 博士, 教授, 安徽医科大学临床药理研究所, 抗炎免疫药物教育部重点实验室, 安徽省高校抗炎免疫药物协同创新中心, 安徽省合肥市 230032

<https://orcid.org/0000-0002-8271-5602> (王新伟)

基金资助: 国家自然科学基金面上项目 (81573443, 81673444), 项目负责人: 常艳; 安徽省自然科学基金杰出青年基金 (170808J10),

项目负责人: 常艳; 2016年高校优秀青年人才支持计划重点项目 (gxyqZD2016043), 项目负责人: 常艳

引用本文: 王新伟, 赵英杰, 常艳, 魏伟. 间充质干细胞治疗骨关节炎软骨损伤: 作用、应用与问题 [J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(31):5053-5058.



Wang Xinwei, Master candidate, Institute of Clinical Pharmacology, Anhui Medical University; Key Laboratory of Antiinflammatory and Immune Medicine, Ministry of Education; Anhui University Collaborative Innovation Center for Antiinflammatory and Immune Drugs; Hefei 230032, Anhui Province, China

Corresponding author: Chang Yan, MD, Professor, Institute of Clinical Pharmacology, Anhui Medical University; Key Laboratory of Antiinflammatory and Immune Medicine, Ministry of Education; Anhui University Collaborative Innovation Center for Antiinflammatory and Immune Drugs; Hefei 230032, Anhui Province, China

Co-corresponding author: Wei Wei, MD, Professor, Institute of Clinical Pharmacology, Anhui Medical University; Key Laboratory of Antiinflammatory and Immune Medicine, Ministry of Education; Anhui University Collaborative Innovation Center for Antiinflammatory and Immune Drugs; Hefei 230032, Anhui Province, China

Abstract

BACKGROUND: Mesenchymal stem cells have a wide range of sources and are easy to be isolated and cultured. It also has the functions of multidirectional differentiation, tissue repair, anti-inflammatory and immune regulation, which provides a new approach for the treatment of articular cartilage injury.

OBJECTIVE: To review the application and research of mesenchymal stem cells in the treatment of osteoarthritis cartilage damage.

METHODS: Using "osteoarthritis, cartilage damage, mesenchymal stem cell, treatment" as the English and Chinese keywords, the first author retrieved the included in PubMed and CNKI databases from 2000 to 2020. After excluding articles that were not relevant and repetitive for the purpose of the article, fifty articles were included for review in the end.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Tissue engineering methods combined the multi-differentiation function of mesenchymal stem cells with the characteristics of bioscaffold materials can better promote the repair of damaged cartilage, and has made many achievements in basic research and clinical research. (2) Joint injection of mesenchymal stem cells with the solvent can exert the therapeutic effect and expand the advantages of mesenchymal stem cells. (3) Mesenchymal stem cell exosome for the therapy of osteoarthritis cartilage damage is still in the basic stage, which will become the developmental trend of osteoarthritis cartilage damage treatment.

Key words: stem cells; mesenchymal stem cells; osteoarthritis; cartilage injury; treatment; tissue engineering; review

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81573443, 81673444 (to CY); the Anhui Province Natural Science Fund (Outstanding Youth), No. 170808J10 (to CY); the Key Projects of Outstanding Young Talent Support Program in Colleges and Universities in 2016, No. gxyqZD2016043 (to CY)

How to cite this article: WANG XW, ZHAO YJ, CHANG Y, WEI W. Mesenchymal stem cells in the treatment of cartilage damage in osteoarthritis: role, application, and problem. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2021;25(31):5053-5058.

0 引言 Introduction

骨关节炎是一种关节退行性疾病，主要以关节软骨退化损伤为特征。关节软骨损伤后不能自愈，目前治疗骨关节炎软骨损伤的方法不能让人满意。研究发现间充质干细胞是一种具有组织修复、抗炎和免疫调节功能的多功能干细胞，从而比较理想的适用于骨关节炎软骨再生治疗。最近发现间充质干细胞外泌体治疗骨关节炎也成为一种新兴疗法被学者们广泛关注。作者检索国内外相关资料，对目前间充质干细胞治疗骨关节炎软骨损伤的研究进展和应用进行综述。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 以“骨关节炎，软骨损伤，间充质干细胞，治疗”和“osteoarthritis, cartilage damage, mesenchymal stem cell”为关键词，在 PubMed 和中国知网数据库中进行检索，检索文献的类型包括综述性论文、研究性论文和著作等，检索文献时限为 2000 至 2020 年。

1.2 文献的筛选标准 间充质干细胞治疗骨关节炎软骨损伤方面的研究。

1.3 资料提取与纳入文献基本情况 排除与文章研究目的无关的文献，共纳入 50 篇符合标准的文献进行综述，其中 14 篇文献阐述骨关节炎软骨损伤及其治疗的基本情况，36 篇文献阐述间充质干细胞及其在骨关节炎软骨损伤中的应用与研究。

2 结果 Results

2.1 关节软骨损伤及治疗现状 骨关节炎是一种以关节软骨退化、软骨下骨硬化、骨赘形成以及滑膜炎为特征的关节退行性疾病^[1]，患者主要临床症状为关节疼痛、关节肿胀和关节畸形，患者的日常活动受到严重限制^[2-3]。骨关节炎患

者的主要病理改变是关节软骨受到破坏^[4]，其病因和发病机制目前还不明确，但慢性劳损、年龄、肥胖和创伤等因素所引起的关节软骨损伤是骨关节炎早期发展进程中的一个重要环节。关节软骨的组成结构特殊，由软骨细胞和细胞外基质组成^[5]，关节软骨内不含血管和神经系统，受到损伤后不具备自我修复能力，软骨受损后随着时间的推移，软骨细胞功能发生改变，分泌金属蛋白水解酶和炎性因子，使得蛋白聚糖降解，细胞外基质组成成分发生改变，软骨合成代谢与分解代谢失调，软骨基质降解^[6-7]，导致关节软骨病变，最终引发骨关节炎。

目前治疗软骨损伤的方法有药物治疗、手术治疗和自体软骨细胞移植。药物治疗主要包括使用非类固醇类抗炎药、金属蛋白酶抑制剂、关节腔注射糖皮质激素和关节腔注射透明质酸^[8]，手术方法主要有骨髓刺激（微骨折或软骨下钻孔）、骨软骨移植、人工关节置换术^[9]，药物疗法和手术治疗只能起到缓解作用，而不能促进受损关节软骨的再生。随着组织工程和细胞再生技术的发展，基于细胞疗法修复受损软骨取得了令人鼓舞的效果。1994 年 BRITTEBERG 等首次使用自体软骨细胞移植促进受损关节软骨再生，此后 20 多年来自体软骨细胞移植一直被用于软骨损伤的修复^[10-11]。然而，这项技术需要对患者进行软骨活检，这是一个具有侵入性的过程，并且来自供者的软骨细胞在培养过程中会发生分化，同时伴有软骨特异性基因表达下调以及移植后在体内存活时间有限等缺陷，使得自体软骨细胞移植在临床中的应用受到限制^[12]。

近年来，研究者们发现间充质干细胞可通过其自身的抗炎和免疫调节能力以及分泌各种生物活性因子来调节软骨受损部位局部微环境，保护软骨免受进一步破坏^[13]，这提示间充质干细胞可作为骨关节炎软骨再生治疗的理想种子细胞^[14]。

2.2 间充质干细胞在治疗骨关节炎软骨损伤中的应用 间充质干细胞作为一种多功能干细胞,最开始于骨髓中发现,后来可以从脂肪、脐带、胎盘和滑膜等组织中获得。间充质干细胞具有自我更新能力和多向分化潜能,可分化为脂肪细胞、成骨细胞和软骨细胞^[15],进一步研究发现间充质干细胞还可借助旁分泌机制发挥强大的免疫调节能力和抗炎活性,有助于组织修复。间充质干细胞的这些特点使得其在治疗骨关节炎软骨损伤中具有独特的优势。目前间充质干细胞治疗骨关节炎软骨损伤的应用与研究包括以下几个方面。

2.2.1 间充质干细胞移植与组织工程 绝大多数组织工程研究是将间充质干细胞与支架生物材料联用,并加入诱导间充质干细胞向软骨细胞分化的因子,移植到软骨缺损部位,促进软骨再生,从而达到修复软骨的目的。间充质干细胞能够向软骨细胞分化,能分泌细胞外基质合成所需的营养物质,生物材料具有精确的形状和显微结构,性能稳定、无毒、生物相容性好,与间充质干细胞植入软骨缺损部位后可降解,有助于间充质干细胞的软骨分化从而促进新软骨的形成^[16],二者联用后可以更好地发挥软骨修复作用。目前最常见的支架生物材料有胶原蛋白凝胶、琼脂糖、富血小板纤维蛋白凝胶和3D支架等^[17-18],这种组织工程方法已在动物软骨损伤模型中取得较好的效果,其临床研究也已展开。

2004年GUO等^[19]将体外培养的自体间充质干细胞封装于生物陶瓷支架 β -磷酸三钙中,植入绵羊骨关节炎模型的关节软骨缺损处(手术钻孔,关节软骨缺损部位直径为8 mm,深度为4 mm),结果发现受损软骨表面发生了软骨再生,且糖胺聚糖水平明显增加。2008年MRUGALA等^[20]从绵羊骨髓中分离出骨髓间充质干细胞,然后在该细胞中加入壳聚糖和生长因子并包裹在纤维蛋白凝胶中,植入绵羊骨关节炎模型的关节损伤部位(手术钻孔,关节软骨缺损部位直径为4 mm),对照组只给予绵羊骨髓间充质干细胞,2个月后组织学分析显示,绵羊骨髓间充质干细胞与壳聚糖以及生长因子联用可以促进软骨缺损部位新生透明软骨的形成,对照组病情缓解,但未见新生软骨。2014年KIM等^[21]探讨自组装多肽水凝胶包封间充质干细胞在治疗大鼠骨关节炎模型中的作用,结果发现自组装多肽水凝胶包封间充质干细胞对骨关节炎大鼠膝关节起到软骨保护作用,抑制炎症因子水平和凋亡生化标志

物的表达,并降低其软骨下骨密度。

在已经开展的临床试验中,也已证明通过手术将间充质干细胞植入局灶性关节软骨缺损部位可以改善骨关节炎患者的症状并使关节软骨再生^[22-25]。2010年NEJADNIK等^[26]比较自体软骨细胞移植与自体骨髓间充质干细胞移植治疗骨关节炎患者的临床疗效,他们使用自体软骨细胞或自体骨髓间充质干细胞对72例骨关节炎患者进行治疗(这些患者经临床检查和MRI诊断发现股骨髁和髌骨发生软骨病变),结果发现2种细胞治疗后患者的关节软骨均出现再生,生活质量明显改善,说明应用骨髓间充质干细胞修复关节软骨与应用软骨细胞修复关节软骨一样有效。基于骨髓间充质干细胞的治疗侵入性低,所以显著降低了患者不良反应和手术成本。WAKITANI等^[27]进行了首次大规模临床试验研究,共有41例骨关节炎患者参与(经MRI检测发现患者髌骨层软骨缺损),他们将包埋在胶原蛋白凝胶中的自体骨髓间充质干细胞植入骨关节炎患者的软骨缺损部位,对患者定期进行随访,结果发现对照组和骨髓间充质干细胞组患者关节功能均得到改善,但只有骨髓间充质干细胞组才观察到患者软骨缺损处有透明软骨新生。KOH等^[28]将脂肪间充质干细胞移植到35例骨关节炎患者膝关节软骨病变处,并使用关节镜手术评估修复效果,在植入脂肪间充质干细胞后的2年时间内对患者进行随访,并无任何不良反应发生,国际软骨修复评分得到显著改善。

综上所述,间充质干细胞与生物材料组织工程复合物可成功修复骨关节炎软骨损伤,特别适合严重软骨缺损的骨关节炎患者。但不同来源间充质干细胞在体内定向分化的稳定性难以控制,分化过程中存在过度分化现象以及分化后的软骨细胞表型不一,所以在大规模应用于临床之前,还需要进行大量的临床试验。

组织工程复合物治疗骨关节炎软骨损伤的临床前和临床研究,见表1。

2.2.2 关节腔直接注射间充质干细胞 将间充质干细胞与溶媒混合成细胞悬液进行关节注射也是治疗骨关节炎软骨损伤的常用方式。溶媒中富含大量生长因子和营养物质,可促进间充质干细胞的软骨分化和增殖,并对软骨细胞凋亡有一定的保护作用,二者联合注射为间充质干细胞发挥软骨修复作

表1 | 组织工程复合物治疗骨关节炎软骨损伤的临床前和临床研究

细胞类型	生物支架材料	受试对象	动物模型建立方式	结果	文献
自体骨髓间充质干细胞	β -磷酸三钙	绵羊骨关节炎模型	前交叉韧带切除术	自体骨髓间充质干细胞与 β -磷酸三钙联用可以促进骨关节炎大鼠软骨再生	[19]
自体骨髓间充质干细胞	壳聚糖和转化生长因子	绵羊骨关节炎模型	前交叉韧带切除术	与对照组相比,接受自体骨髓间充质干细胞移植组再生透明软骨	[20]
异体骨髓间充质干细胞	自组装多肽水凝胶	大鼠骨关节炎模型	Hulth法	自组装多肽水凝胶包封异体骨髓间充质干细胞对骨关节炎大鼠软骨起到保护作用,并降低其软骨下骨密度	[21]
自体骨髓间充质干细胞	蛋白凝胶	1例骨关节炎患者		自体骨髓间充质干细胞移植后1年,患者软骨缺损处新生透明软骨	[22]
自体骨髓间充质干细胞	蛋白凝胶	3例骨关节炎患者		自体骨髓间充质干细胞移植后1年,其中2例患者病情得到改善,关节功能得到恢复,1例患者病情未得到改善	[23]
自体骨髓间充质干细胞	富血小板纤维蛋白凝胶	5例骨关节炎患者		MRI结果显示患者的软骨缺损处均被覆盖,有透明软骨新生	[24]
自体骨髓间充质干细胞	无	72例骨关节炎患者		自体骨髓间充质干细胞移植后2年,所有患者均未发现不良反应,患者的关节软骨评分得到很大改善	[25]
自体骨髓间充质干细胞	蛋白凝胶	41例骨关节炎患者		患者疼痛减轻,活动能力改善,关节功能恢复	[27]
自体脂肪间充质干细胞	无	35例骨关节炎患者		患者关节软骨再生,生活质量改善	[28]

用提供帮助，常用的溶媒包括透明质酸、富血小板血浆、生理血清和磷酸盐缓冲液等^[29-31]。最近，动物实验和临床试验也证明了关节腔内注射间充质干细胞治疗骨关节炎软骨损伤的潜力。

OROZCO 等^[32]采用前交叉韧带切除法构建小型猪软骨损伤模型，用电钻钻孔，将骨髓间充质干细胞与透明质酸组成的细胞悬液注射到孔洞处，发现受损软骨在形态学和组织学上表现出良好的再生效果，随后 LEE 等^[33-35]发现用基础培养基为溶媒与骨髓间充质干细胞混合注射到绵羊骨关节炎模型关节腔，可促进受损软骨部位细胞外基质的合成，使得软骨再生，延缓骨关节炎的进展。

临床前研究为临床间充质干细胞注射治疗骨关节炎软骨损伤提供大量的理论依据^[36]，评估间充质干细胞对骨关节炎软骨损伤治疗有效性和安全性的大量临床试验也已经启动。2008 年 CENTENO 等^[29]从骨关节炎患者骨髓中分离骨髓间充质干细胞并进行体外培养，然后将骨髓间充质干细胞与磷酸盐缓冲液混合的细胞悬液注射到骨关节炎患者关节腔，注射 24 周后 MRI 结果显示骨关节炎患者软骨和半月板有明显修复，患者疼痛评分降低，提示关节腔注射体外培养的自体间充质干细胞可修复受损软骨。2011 年 DAVATCHI 等^[30]以 4 例骨关节炎患者为研究对象，他们从患者骨髓中分离骨髓间充质干细胞并大量培养，然后以生理血清为溶媒，将骨髓间充质干细胞注射到每个患者的关节腔中，6 个月后 MRI 显示有 3 例患者软骨缺损部位明显改善，疼痛减轻，另外 1 例患者病情无明显变化，这样的结果虽令人鼓舞，但不能令人满意，他们认为改进这项技术可以取得更好的治疗效果。VANGSNESS 等^[37]在 2014 年进行一项随机、双盲、对照研究评估关节腔注射自体骨髓间充质干细胞的安全性，以及验证间充质干细胞促进软骨再生的能力，他们对 7 个机构的 55 例患者进行了部分内侧半月板切除术，并将这些患者随机分 3 组，然后在患者半月板切除后的 7-10 d 内，以透明质酸为溶媒，分别给予间充质干细胞 (5×10^6 , 1×10^7 个细胞) 和相同体积的透明质酸钠 (作为对照组) 进行膝关节注射，在半月板切除术后 12 个月，MRI 显示骨髓间充质干细胞注射组患

者的半月板体积显著增加，软骨缺损部位有新生软骨出现，并且未发现临床不良反应，而对照组患者半月板生长缓慢且未发现新生软骨，FREITAG 等^[38]进行了一项研究评价自体脂肪间充质干细胞治疗骨关节炎的有效性和安全性，他们将 30 例骨关节炎患者随机分为 3 组，第 1 组仅给予单次注射 (1×10^7 个脂肪间充质干细胞)，第 2 组给予 2 次注射 (第 2 次在第 6 个月时)，第 3 组为对照组，继续保守治疗，结果发现脂肪间充质干细胞组患者疼痛明显改善，MRI 结果显示脂肪间充质干细胞组骨关节炎患者膝关节评分降低，膝关节处再生透明样关节软骨，且 2 次注射比单次注射疗效更好，无严重不良事件发生。

综上所述，与间充质干细胞移植相比，关节腔注射间充质干细胞治疗骨关节炎软骨损伤是一种相对简单易行的方法，具有更低的侵入性，减少了一些并发症的发生，适用于轻度或中度骨关节炎患者，但是注入关节腔的间充质干细胞生存期较短，存活的细胞数量与多种因素相关，以及如何选择最适来源的间充质干细胞和最佳的治疗浓度还需要进行大量研究。

关节腔直接注射间充质干细胞治疗骨关节炎软骨损伤的临床前和临床研究，见表 2。

2.2.3 间充质干细胞外泌体在骨关节炎中的潜在应用 以前人们认为间充质干细胞用于软骨组织的修复是基于其直接分化为软骨细胞再生软骨，或刺激内源性软骨细胞修复软骨，但现在越来越多的证据表明间充质干细胞的软骨修复能力是其旁分泌作用所介导的。间充质干细胞可分泌多种生长因子、营养因子，促进自身分化为软骨细胞以及促进驻留软骨细胞增殖和生长，分泌抗炎和免疫调节因子调节受损组织微环境，促进组织再生^[39-40]。近年来发现间充质干细胞自身分泌的细胞外囊泡在软骨修复过程中起着很大的作用，这为间充质干细胞治疗骨关节炎软骨损伤提供新的视角。细胞外囊泡是由细胞释放的各种具有膜结构的囊泡结构统称，根据其直径不同，可分外泌体、微囊泡、凋亡小体和癌小体。外泌体和微囊泡都属于细胞外囊泡，它们的主要区别在于外泌体是通过多泡体与质膜融合释放出来的，其直径为 30-150 nm，微囊

表 2 | 关节腔直接注射间充质干细胞治疗骨关节炎软骨损伤的临床前和临床研究

细胞类型	溶媒	受试对象	动物模型建立方式	结果	文献出处
自体骨髓间充质干细胞	透明质酸	小型猪骨关节炎模型	Hulth 法	受损软骨在形态学和组织学上表现出良好的再生效果	[32]
自体骨髓间充质干细胞	基础培养基	绵羊骨关节炎模型	Hulth 法	骨关节炎进展受到抑制，软骨再生情况良好	[33]
自体脂肪间充质干细胞	软骨分化培养基	绵羊骨关节炎模型	前交叉韧带切除法	关节内注入的细胞悬液填满软骨损伤区域，合成细胞外基质并再生软骨	[34]
异体脂肪间充质干细胞	磷酸盐缓冲液	大鼠骨关节炎模型	前交叉韧带切除法	阻止了骨关节炎大鼠关节退变，降低炎症因子水平	[31]
异体脂肪间充质干细胞	透明质酸	兔骨关节炎模型	前交叉韧带切除法	与对照组相比，异体脂肪间充质干细胞注射组软骨修复效果好	[29]
自体骨髓间充质干细胞	磷酸盐缓冲液	1 例骨关节炎患者		患者的软骨缺损处有透明软骨新生，关节功能得到改善	[30]
自体骨髓间充质干细胞	生理盐水和血清蛋白	4 例骨关节炎患者		4 例患者疼痛均得到缓解，运动能力增强	[37]
自体骨髓间充质干细胞	透明质酸	4 例骨关节炎患者		4 例患者软骨缺损处均再生软骨，且无不良反应	[38]
异体骨髓间充质干细胞	透明质酸和富血小板血浆	55 例骨关节炎患者		接受关节注射异体骨髓间充质干细胞治疗的患者疼痛明显减轻，软骨下硬化和骨赘形成也减少，MRI 结果显示半月板和软骨再生	[39]
自体脂肪间充质干细胞	生理盐水	18 例骨关节炎患者		自体脂肪间充质干细胞高剂量组患者膝关节功能和疼痛改善情况更加理想，且再生透明软骨，无不良反应发生	[40]

泡从质膜上直接脱落, 直径为 100~1 000 nm。目前对外泌体的研究最为深入^[41-42], 几乎所有种类的细胞都可分泌外泌体, 间充质干细胞外泌体内富含脂质、蛋白质和核酸等生物分子, 在功能上延续了间充质干细胞的特性, 能作为信号分子传递给其他细胞, 从而改变其他细胞的功能。已有研究表明, 间充质干细胞外泌体可以促进心脏、肝脏和皮肤组织的修复^[43-45]。临床前研究也表明间充质干细胞外泌体可介导软骨修复和再生。

2017 年 WANG 等^[46]研究了胚胎干细胞来源间充质干细胞外泌体修复骨关节炎软骨的潜力, 他们采用离心分离法从体外培养的胚胎干细胞来源间充质干细胞中提取外泌体, 然后分别注射胚胎干细胞来源间充质干细胞及其外泌体到小鼠骨关节炎模型中, 结果发现都可以减轻骨关节炎小鼠关节软骨的破坏和阻止细胞外基质的降解, 进一步体外研究表明, 这种作用是通过胚胎干细胞来源间充质干细胞外泌体实现的, 其通过平衡软骨细胞外基质的合成和降解, 保护软骨不受破坏, 并促进软骨再生。随后 COSENZA 等^[47]比较了间充质干细胞外泌体和微囊泡对于骨关节炎软骨的保护作用, 他们发现小鼠骨髓间充质干细胞分泌的外泌体和微囊泡可以重新诱导软骨细胞标志物的表达, 同时抑制分解代谢标志物和炎症标志物的表达, 从而保护软骨细胞, 他们在胶原诱导性小鼠骨关节炎模型中分别注射间充质干细胞、间充质干细胞外泌体、间充质干细胞微囊泡, 发现三者对小鼠关节损伤具有相同的保护作用, 提示间充质干细胞外泌体或微囊泡具有和间充质干细胞类似的抗炎和软骨保护功能。有趣的是, 对间充质干细胞外泌体进行基因合成修饰改变某些 miRNA 的表达, 会产生更好的软骨修复效果^[48-49]。例如 MAO 等^[50]发现在胶原诱导性小鼠骨关节炎模型中, miR-92a-3p 过表达的骨髓间充质干细胞外泌体可更好地抑制早期骨关节炎的进展, 防止关节软骨受到损害。体外研究发现, miR-92a-3p 过表达的外泌体可以更有效地促进软骨细胞增殖。以上研究表明间充质干细胞外泌体为骨关节炎治疗提供了新的机会, 与基于间充质干细胞的细胞疗法相比, 间充质干细胞外泌体疗法代表了一种潜在的更安全、更方便、更经济和更有效的治疗方式。

间充质干细胞外泌体治疗骨关节炎软骨损伤的临床前研究, 见表 3。

表 3 | 间充质干细胞外泌体治疗骨关节炎软骨损伤的临床前研究

细胞类型	溶媒	受试对象	动物模型建立方式	结果	文献出处
胚胎干细胞来源间充质干细胞	磷酸盐缓冲液	小鼠骨关节炎模型	Hulth 法	关节内注射胚胎干细胞来源间充质干细胞阻止了骨关节炎小鼠软骨的破坏, 进一步研究表明是通过其分泌的外泌体发挥软骨保护作用	[46]
异体骨髓间充质干细胞	生理盐水	小鼠骨关节炎模型	胶原酶诱导法	骨髓间充质干细胞分泌的微囊泡和外泌体发挥了软骨保护和抗炎功能, 促进骨关节炎小鼠的软骨再生	[27]
miR-140-5p 过表达的滑膜间充质干细胞	生理盐水	小鼠骨关节炎模型	前交叉韧带切除术	转染了 miR-140-5p 的滑膜间充质干细胞外泌体成功阻止了骨关节炎大鼠的关节破坏, 并促进软骨细胞产生 II 型胶原	[48]
缺失 Inc-KLF3-AS1 的骨髓间充质干细胞	磷酸盐缓冲液	大鼠骨关节炎模型	胶原酶诱导法	促进了骨关节炎大鼠的软骨修复和软骨细胞增殖	[49]
miR-92a-3p 过表达的骨髓间充质干细胞	磷酸盐缓冲液	大鼠骨关节炎模型	胶原酶诱导法	转染了 miR-92a-3p 的骨髓间充质干细胞外泌体可抑制早期骨关节炎的进展, 并阻止关节软骨损伤	[50]

3 结论 Conclusions

随着对间充质干细胞研究的不断深入, 以间充质干细胞为基础的细胞再生疗法显示出修复骨关节炎软骨损伤的优势。该文章总结了目前间充质干细胞用于治疗骨关节炎软骨损伤的应用方式, 其中组织工程方法将间充质干细胞的多向分化功能和生物支架材料的特性结合, 能够更好地促进受损软骨的修复, 但间充质干细胞在体内定向分化的稳定性难以控制, 分化后的软骨细胞表型不一, 使得其还不能在临床上大规模应用。间充质干细胞与溶媒混合后直接注入关节受损部位方法简单经济、侵入性低且不易引起并发症, 但如何确保间充质干细胞在关节内的存活时间和存活数量以及如何选择间充质干细胞的来源以及注射的浓度还需进一步解决。间充质干细胞外泌体作为一种新兴疗法其潜力巨大, 但目前研究还不够深入, 仅处于临床前研究阶段, 还需要在基础和临床研究方面需要付出大量努力。尽管如此, 间充质干细胞治疗骨关节炎软骨损伤的前景是光明的, 以间充质干细胞为基础的细胞再生相关疗法最终将成为临床治疗骨关节炎及其软骨损伤的常规手段。

作者贡献: 第一作者完成检索、整理、分析文献, 编写综述; 第二作者负责查漏补缺及错别字的检查; 通讯作者负责选题和审校文章。

经费支持: 该文章接受了“国家自然科学基金面上项目 (81573443, 81673444)”“安徽省自然科学基金杰出青年基金 (170808J10)”及“2016 年高校优秀青年人才支持计划重点项目 (gxyqZD2016043)”的资助。所有作者声明, 经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南: 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] ARDEN NK, LEYLAND KM. Osteoarthritis year 2013 in review: clinical. *Osteoarthritis Cartilage*. 2013;21(10):1409-1413.
- [2] GAO SG, LI KH, ZENG KB, et al. Elevated osteopontin level of synovial fluid and articular cartilage is associated with disease severity in knee osteoarthritis patients. *Osteoarthritis Cartilage*. 2010;18(1):82-87.
- [3] MONTGOMERY SR, FOSTER BD, NGO SS, et al. Trends in the surgical treatment of articular cartilage defects of the knee in the United States. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2014;22(9):2070-2075.
- [4] ZHANG L, HU H, TIAN F, et al. Enhancement of subchondral bone quality by alendronate administration for the reduction of cartilage degeneration in the early phase of experimental osteoarthritis. *Clin Exp Med*. 2011;11(4):235-243.
- [5] ARMIENTO AR, STODDART MJ, ALINI M, et al. Biomaterials for articular cartilage tissue engineering: Learning from biology. *Acta Biomater*. 2018;65:1-20.
- [6] CHEN S, FU P, WU H, et al. Meniscus, articular cartilage and nucleus pulposus: a comparative review of cartilage-like tissues in anatomy, development and function. *Cell Tissue Res*. 2017;370(1):53-70.
- [7] VAN DEN BOSCH MH, BLOM AB, VAN LENT PL, et al. Canonical Wnt signaling skews TGF- β signaling in chondrocytes towards signaling via ALK1 and Smad 1/5/8. *Cell Signal*. 2014;26(5):951-958.
- [8] 鲁玉来, 鲁雯, 燕好军, 等. 骨关节炎的药物治疗 [J]. 中国矫形外科杂志, 2002,10(z2):1425-1427.
- [9] 张洪涛, 张继文, 姜波, 等. 关节镜微骨折术治疗膝骨关节炎合并软骨损伤疗效观察 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2011,25(3):270-271.
- [10] RICHTER DL, SCHENCK RC JR, WASCHER DC, et al. Knee Articular Cartilage Repair and Restoration Techniques: A Review of the Literature. *Sports Health*. 2016;8(2):153-160.
- [11] MEDVEDEVA EV, GREBENIK EA, GORNOSTAEVA SN, et al. Repair of Damaged Articular Cartilage: Current Approaches and Future Directions. *Int J Mol Sci*. 2018;19(8):2366.
- [12] PHULL AR, EO SH, ABBAS Q, et al. Applications of Chondrocyte-Based Cartilage Engineering: An Overview. *Biomed Res Int*. 2016;2016:1879837.
- [13] DEMOOR M, OLLITRAULT D, GOMEZ-LEDUC T, et al. Cartilage tissue engineering: molecular control of chondrocyte differentiation for proper cartilage matrix reconstruction. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1840(8):2414-2440.
- [14] SAKATA R, IWAKURA T, REDDI AH. Regeneration of Articular Cartilage Surface: Morphogens, Cells, and Extracellular Matrix Scaffolds. *Tissue Eng Part B Rev*. 2015;21(5):461-473.
- [15] ALMALKI SG, AGRAWAL DK. Key transcription factors in the differentiation of mesenchymal stem cells. *Differentiation*. 2016;92(1-2):41-51.
- [16] GLOWACKI J, MIZUNO S. Collagen scaffolds for tissue engineering. *Biopolymers*. 2008;89(5):338-344.
- [17] KON E, FILARDO G, DI MATTEO B, et al. PRP-augmented scaffolds for cartilage regeneration: A systematic review. *Operative Techniques in Sports Medicine*. 2013;21(2):108-115.
- [18] JOHNSTONE B, ALINI M, CUCCHIARINI M, et al. Tissue engineering for articular cartilage repair--the state of the art. *Eur Cell Mater*. 2013;25:248-267.
- [19] GUO X, WANG C, ZHANG Y, et al. Repair of large articular cartilage defects with implants of autologous mesenchymal stem cells seeded into beta-tricalcium phosphate in a sheep model. *Tissue Eng*. 2004;10(11-12):1818-1829.
- [20] MRUGALA D, BONY C, NEVES N, et al. Phenotypic and functional characterisation of ovine mesenchymal stem cells: application to a cartilage defect model. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(3):288-295.
- [21] KIM JE, LEE SM, KIM SH, et al. Effect of self-assembled peptide-mesenchymal stem cell complex on the progression of osteoarthritis in a rat model. *Int J Nanomedicine*. 2014;9 Suppl 1(Suppl 1):141-157.
- [22] KURODA R, ISHIDA K, MATSUMOTO T, et al. Treatment of a full-thickness articular cartilage defect in the femoral condyle of an athlete with autologous bone-marrow stromal cells. *Osteoarthritis Cartilage*. 2007;15(2):226-231.
- [23] WAKITANI S, NAWATA M, TENSIO K, et al. Repair of articular cartilage defects in the patello-femoral joint with autologous bone marrow mesenchymal cell transplantation: three case reports involving nine defects in five knees. *J Tissue Eng Regen Med*. 2007;1(1):74-79.
- [24] HALEEM AM, SINGERY AA, SABRY D, et al. The Clinical Use of Human Culture-Expanded Autologous Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Transplanted on Platelet-Rich Fibrin Glue in the Treatment of Articular Cartilage Defects: A Pilot Study and Preliminary Results. *Cartilage*. 2010;1(4):253-261.
- [25] WAKITANI S, IMOTO K, YAMAMOTO T, et al. Human autologous culture expanded bone marrow mesenchymal cell transplantation for repair of cartilage defects in osteoarthritic knees. *Osteoarthritis Cartilage*. 2002;10(3):199-206.
- [26] NEJADNIK H, HUI JH, FENG CHOONG EP, et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells versus autologous chondrocyte implantation: an observational cohort study. *Am J Sports Med*. 2010;38(6):1110-1116.
- [27] WAKITANI S, MITSUOKA T, NAKAMURA N, et al. Autologous bone marrow stromal cell transplantation for repair of full-thickness articular cartilage defects in human patellae: two case reports. *Cell Transplant*. 2004;13(5):595-600.
- [28] KOH YG, CHOI YJ, KWON OR, et al. Second-Look Arthroscopic Evaluation of Cartilage Lesions After Mesenchymal Stem Cell Implantation in Osteoarthritic Knees. *Am J Sports Med*. 2014;42(7):1628-1637.
- [29] CENTENO CJ, BUSSE D, KISIDAY J, et al. Increased knee cartilage volume in degenerative joint disease using percutaneously implanted, autologous mesenchymal stem cells. *Pain Physician*. 2008;11(3):343-353.
- [30] DAVATCHI F, ABDOLLAHI BS, MOHYEDDIN M, et al. Mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. Preliminary report of four patients. *Int J Rheum Dis*. 2011;14(2):211-215.
- [31] 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. *Stem Cells*. 2014;32(5):1254-1266.
- [32] OROZCO L, MUNAR A, SOLER R, et al. Treatment of knee osteoarthritis with autologous mesenchymal stem cells: a pilot study. *Transplantation*. 2013;95(12):1535-1541.
- [33] LEE KB, HUI JH, SONG IC, et al. Injectable mesenchymal stem cell therapy for large cartilage defects--a porcine model. *Stem Cells*. 2007;25(11):2964-2971.
- [34] MURPHY JM, FINK DJ, HUNZIKER EB, et al. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2003;48(12):3464-3474.
- [35] AL FAQEH H, NOR HAMDAN BM, CHEN HC, et al. The potential of intra-articular injection of chondrogenic-induced bone marrow stem cells to retard the progression of osteoarthritis in a sheep model. *Exp Gerontol*. 2012;47(6):458-464.
- [36] UDE CC, SULAIMAN SB, MIN-HWEI N, et al. Cartilage regeneration by chondrogenic induced adult stem cells in osteoarthritic sheep model. *PLoS One*. 2014;9(6):e98770.
- [37] VANGSNESS CT JR, FARR J 2ND, 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 Bone Joint Surg Am*. 2014;96(2):90-98.
- [38] FREITAG J, BATES D, WICKHAM J, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cell therapy in the treatment of knee osteoarthritis: a randomized controlled trial. *Regen Med*. 2019;14(3):213-230.
- [39] TOH WS, FOLDAGER CB, PEI M, et al. Advances in mesenchymal stem cell-based strategies for cartilage repair and regeneration. *Stem Cell Rev Rep*. 2014;10(5):686-696.
- [40] MEIRELLES LDA S, FONTES AM, COVAS DT, et al. Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2009;20(5-6):419-427.
- [41] LAI RC, YEO RW, LIM SK. Mesenchymal stem cell exosomes. *Semin Cell Dev Biol*. 2015;40:82-88.
- [42] PHINNEY DG, PITTENGER MF. Concise Review: MSC-Derived Exosomes for Cell-Free Therapy. *Stem Cells*. 2017;35(4):851-858.
- [43] LAI RC, ARSLAN F, LEE MM, et al. Exosome secreted by MSC reduces myocardial ischemia/reperfusion injury. *Stem Cell Res*. 2010;4(3):214-222.
- [44] TAN CY, LAI RC, WONG W, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote hepatic regeneration in drug-induced liver injury models. *Stem Cell Res Ther*. 2014;5(3):76.
- [45] ZHANG B, YIN Y, LAI RC, et al. Mesenchymal stem cells secrete immunologically active exosomes. *Stem Cells Dev*. 2014;23(11):1233-1244.
- [46] WANG Y, YU D, LIU Z, et al. Exosomes from embryonic mesenchymal stem cells alleviate osteoarthritis through balancing synthesis and degradation of cartilage extracellular matrix. *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):189.
- [47] COSENZA S, RUIZ M, TOUPET K, et al. Mesenchymal stem cells derived exosomes and microparticles protect cartilage and bone from degradation in osteoarthritis. *Sci Rep*. 2017;7(1):16214.
- [48] TAO SC, YUAN T, ZHANG YL, et al. Exosomes derived from miR-140-5p-overexpressing human synovial mesenchymal stem cells enhance cartilage tissue regeneration and prevent osteoarthritis of the knee in a rat model. *Theranostics*. 2017;7(1):180-195.
- [49] LIU Y, ZOU R, WANG Z, et al. Exosomal KLF3-AS1 from hMSCs promoted cartilage repair and chondrocyte proliferation in osteoarthritis. *Biochem J*. 2018;475(22):3629-3638.
- [50] MAO G, ZHANG Z, HU S, et al. Exosomes derived from miR-92a-3p-overexpressing human mesenchymal stem cells enhance chondrogenesis and suppress cartilage degradation via targeting WNT5A. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9(1):247.

(责任编辑: MZH, ZN, JY)