

• 干细胞与组织工程 •

应用干细胞旁分泌效应治疗膝部骨关节炎的研究进展



陈闻波, 蔡江瑜, 孙亚英, 陈俊, 陈世益

复旦大学附属华山医院运动医学与关节镜外科(上海 200040)

【摘要】 目的 综述现阶段应用干细胞旁分泌效应治疗膝部骨关节炎(osteoarthritis, OA)的研究进展。**方法** 查阅近年来干细胞来源条件培养液、细胞外基质、外泌体及微囊泡在膝部OA及软骨修复领域的相关基础研究,并进行总结分析。**结果** 干细胞旁分泌效应对膝部OA及关节软骨损伤的治疗效果,在不同层面的多项研究中已有所彰显。其作用机制包括对关节腔内炎症反应、软骨细胞凋亡、软骨基质水解的有效抑制,以及促进软骨基质合成、原位固有干细胞向软骨细胞定向分化、并向损伤部位定向迁移等修复过程。结合组织工程学方法或基因修饰等手段能进一步提升疗效。**结论** 相较传统干细胞疗法,应用干细胞旁分泌效应产物治疗膝部OA更为安全且经济,具有较高的临床转化价值。

【关键词】 骨关节炎; 干细胞治疗; 旁分泌; 外泌体; 微囊泡; 细胞外基质

Research progress in treatment of knee osteoarthritis by paracrine effect of stem cells

CHEN Wenbo, CAI Jiangyu, SUN Yaying, CHEN Jun, CHEN Shiyi

Department of Sports Medicine and Arthroscopy, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai, 200040, P.R.China

Corresponding author: CHEN Shiyi, Email: cshiyi@163.com

【Abstract】 Objective To review the advances in utilizing paracrine effect of stem cells in knee osteoarthritis (OA) treatment. **Methods** The researches in applying stem cells derived conditioned medium, extracellular matrix, exosomes, and microvesicles in knee OA treatment and cartilage repair were reviewed and analyzed. **Results** The satisfying outcomes of using different products of stem cells paracrine effect in knee OA condition as well as cartilage defect is revealed in studies *in vitro* and *in vivo*. The mechanism including suppressing the intraarticular inflammation, the apoptosis of chondrocytes, and the degradation of cartilage matrix, while enhancing the synthesis of cartilage matrix, the differentiation of *in-situ* stem cells into chondrocytes and the migration to the affected area. The effectiveness can be further improved supplemented with the tissue engineering methods or gene modification. **Conclusion** Compared with the traditional stem cell therapy, applying the products from paracrine effect of stem cells in knee OA treatment is more economical and safer, presenting great potential in clinical practice.

【Key words】 Osteoarthritis; stem cells therapy; paracrine effect; exosome; microvesicle; extracellular matrix

Foundation items: National Key Research & Development Program of China (2016YFC1100300, 2017YFC0840100, 2017YFC0840106); National Natural Science Foundation of China (81572108, 81772339); the Key Clinical Medicine Center of Shanghai (2017ZZ01006); Sanming Project of Medicine in Shenzhen (SZSM20161207); Shanghai Rising-Star Project (18QB1400500); the Introduction Project of Clinical Medicine Expert Team for Suzhou (SZYJTD201714); Development Project of Shanghai Peak Disciplines-Integrative Medicine (20180101)

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是最常见的慢性
疾病之一,可导致关节软骨及软骨下骨退行性改

变^[1]。年龄、体质量、运动损伤是导致OA的主要病
因^[2]。随着老龄化人口及肥胖人口数目的增加、人

DOI: 10.7507/1002-1892.201903074

基金项目: 国家重点研发计划资助项目(2016YFC1100300、2017YFC0840100、2017YFC0840106); 国家自然科学基金资助项目(81572108、81772339); 上海市重中之重临床医学中心项目(2017ZZ01006); 深圳三名工程(SZSM20161207); 上海市启明星计划(18QB1400500); 苏州市临床医学专家团队引进项目(SZYJTD201714); 上海市高峰学科(中西医结合)项目(20180101)

通信作者: 陈世益, Email: cshiyi@163.com

民群众体育运动参与度的提升,预计在 2020 年,OA 将成为全球范围第四大致残诱因^[3]。

OA 对患者劳动能力,乃至生活自理能力的损害,源于病程中关节软骨的退变。而现阶段研究认为,上述病理过程是关节腔内炎症反应、软骨细胞凋亡、软骨细胞外基质(extracellular matrix, ECM)丧失以及软骨下骨微结构改变等多因素共同作用的结果。由此导致患者受累关节伴随活动出现疼痛、肿胀、僵硬及活动度受限等症状,且症状随病程进展而加重,严重影响患者生活质量^[4]。迄今为止,临床实践中尚没有能有效延缓 OA 进展的药物治疗手段。常规使用的非甾体类抗炎药及皮质类固醇激素只能暂时缓解症状,有研究报道该治疗可能间接促使患者在症状缓解后过度活动受累关节,从而进一步加重病情^[5]。并且,考虑到老年患者同时患 OA 和心血管疾病等基础疾病的概率较高,治疗时常因顾虑病患的身体状况,使得所用药物的剂量与种类受限,以致影响疗效^[6]。此外,根据国际骨关节炎研究协会(OARSI)于 2014 年发布的膝部 OA 非手术治疗指南,关节腔内注射玻璃酸钠、口服氨基葡萄糖及针灸、电疗等物理治疗手段对于膝部 OA 症状的缓解效果并不明确,更难以延缓疾病发展^[7]。在膝部 OA 的手术治疗方案中,膝关节置换术的疗效显著,但仅适用于病情处于终末期的老年患者^[8]。其余手术方式,包括马赛克镶嵌成形术、微骨折术、自体软骨移植术等不仅无法避免供区病变,术后的再生软骨也多为性能不佳的纤维软骨^[9]。综上,当下亟需一种能有效逆转或阻滞膝关节 OA 进展的治疗手段,以应对逐渐老龄化、肥胖化的社会人口结构改变。

干细胞疗法近年来被广泛应用于再生医学领域^[10],并在治疗膝关节 OA 方面取得一定进展。但进一步研究发现,在外源性加入的干细胞悬液中,干细胞旁分泌效应所分泌的一系列营养物质在修复过程中发挥了重要作用^[11]。本文就当下应用干细胞旁分泌效应治疗膝关节 OA 的研究进展综述如下。

1 干细胞疗法的应用

早在 2003 年, Murphy 等^[10]首次发现,通过切除前交叉韧带和内侧半月板得到的山羊膝关节 OA 模型,经过连续 20 周关节腔内注射自体 BMSCs 悬液后,能观察到内侧半月板的再生,且关节软骨退变、骨赘增生以及软骨下骨硬化等状况都较安慰剂

组有显著改善。此后,2008 年, Centeno 等^[11]发表的病例报告报道了膝关节腔内注射干细胞悬液在人体内的首次应用,注射后 24 周经 MRI 观察,患者的关节软骨、半月板都出现了明显的再生迹象,且患者关节活动度、疼痛情况都有显著改善。Jo 等^[12]则在 2009 年首次开展了应用膝关节腔内注射自体 MSCs 悬液治疗膝关节 OA 的前瞻性队列研究,共纳入 18 例患者,并报道了治疗后 2 年的随访结果。他们发现高剂量组中,膝关节功能评分、MRI 影像学评分与疼痛评分均有显著改善,也未发生任何与治疗相关的不良反应。

尽管现阶段干细胞疗法的相关研究已取得瞩目成果,但该疗法的安全性在学界仍未达成共识。Zhang 等^[13]在使用 MSCs 治疗大鼠软骨缺损时,发现实验大鼠对异体来源的 MSCs 产生了明显的免疫排斥反应。而 Nori 等^[14]则在应用多能干细胞治疗小鼠脊髓损伤长达 3 个月后,于组织学切片中观察到肿瘤形成,且经免疫组织化学分析证实肿瘤确实来源于植入体内的多能干细胞。因此,在上述安全隐患未完全消除前,干细胞疗法尚无法于临床实践中大范围推广。不仅如此,干细胞疗法从细胞制备、储存直到最终植入患者体内,其间需全程严格监控并保证细胞活性及增殖分化潜能,由此产生的高昂治疗成本势必将造成患者沉重的经济负担^[15]。

2 干细胞旁分泌效应

随着应用干细胞治疗膝关节 OA 的相关研究不断深入,有研究者运用细胞示踪技术发现,植入体内的 MSCs 仅有少数最终分化成为再生的软骨细胞^[16],继而假设其治疗作用极可能源于 MSCs 植入受损部位后所分泌的包括生长因子、趋化因子、微囊泡、外泌体,甚至 ECM 等营养物质。Wu 等^[17]则通过共培养 MSCs 与初代软骨细胞,观察到 MSCs 能通过自身旁分泌效应促进软骨细胞增殖及软骨基质沉积,且其自身极少发生软骨分化。该发现为直接使用干细胞可能出现的免疫排斥反应、致癌风险等难题提供了新的解决思路。

3 干细胞条件培养液(conditioned medium, CM)的应用

干细胞经旁分泌效应向胞外所释放产物均存在于其培养液中,因此研究人员常将 MSCs 置于无血清 DMEM 培养基培养 48 h 后,加以离心并取上清液作为经脱细胞处理的干细胞 CM,以研究该效

应在各疾病治疗中所起的作用^[18]。Gnecchi 等^[19]在 2006 年首次发现并报道了干细胞 CM 的治疗作用。该研究表明,干细胞 CM 不仅在体外实验中能有效抑制由缺氧所诱导的心肌细胞凋亡,同时能增强心肌细胞收缩能力;体内实验中更显著控制了心肌梗死灶的大小,且实验组动物的心室功能较对照组有显著提升。2012 年,干细胞 CM 与 OA 之间的关联首次得到关注。van Buul 等^[20]在体外实验中观察到,干细胞 CM 能有效抑制软骨细胞和滑膜细胞的炎症反应,以及基质金属蛋白酶 1 (matrix metalloproteinases 1, MMP-1) 及 MMP-13 的表达。Platas 等^[21]通过体外实验进一步发现,干细胞 CM 对软骨细胞及其基质的上述保护作用,是通过抑制 NF- κ B 信号通路的激活而发挥;并能够通过加强 Sirtuin 1 的表达减少 p53 乙酰化,继而缓解氧化应激产物的堆积,最终抑制 OA 所造成的软骨细胞早衰^[22]。Hassan Famian 等^[23]发现将软骨细胞置于人脐带 Wharton's Jelly 来源的干细胞 CM 中培养,能使促软骨基质合成的相关基因表达增强,而软骨基质的含量是维持关节软骨性能的关键所在。

除软骨基质的丧失,早在 1986 年 Radin 等^[24]提出,膝关节 OA 病程中因成骨作用受抑制导致软骨下骨的过度吸收及重塑,从而使关节软骨受力状态发生变异,是关节软骨退变的另一主要原因。而 Chang 等^[25]已证实干细胞 CM 能在大鼠锁骨缺损模型的愈合过程中发挥促成骨效应,因此有理由推测干细胞 CM 极可能凭其促成骨性能,在体内膝关节 OA 模型中通过减少软骨下骨吸收而延缓膝关节 OA 的发展。然而,目前仍鲜有将干细胞 CM 运用于膝关节 OA 动物模型的体内实验报道,是未来值得进一步开展研究的方向。

4 干细胞来源 ECM 的应用

ECM 是干细胞分泌的组分之一,由多种胶原纤维、层粘连蛋白及糖蛋白构成,是整合素、粘连蛋白、盘状结构域受体等黏附分子的作用底物,为细胞间信号传导提供了场所,继而影响了一系列重要细胞行为^[26]。干细胞所分泌 ECM 在防治 OA 中的作用,首先由 Pei 等^[27]于 2012 年发现,该研究表明脱细胞处理后的滑膜来源干细胞 ECM,能为离体关节软骨细胞提供有利于扩增的三维微环境;此后 Pei 等^[28]进一步在体外实验中发现,脱细胞处理后的滑膜来源干细胞 ECM 能通过减轻 OA 病理环境下受累细胞的氧化损伤,从而防止人体关节滑膜中固有的、且数量有限的滑膜干细胞因受氧化损

伤发生病理性衰老,继而增强滑膜中固有干细胞的扩增以及向软骨细胞定向分化的潜能。Zhang 等^[29]则揭示了脱细胞 ECM 促滑膜内固有干细胞定向成软骨的效应,与 Wnt 以及 MAPK 信号通路密切相关。Yang 等^[30]通过组织工程学方法将脱细胞处理后的干细胞 ECM 制成生物支架并种植软骨细胞后置于小鼠皮下,于术后 2 周观察到该支架上的新生软骨含量远高于对照组,成功在体内证明干细胞 ECM 具有促软骨细胞增殖的作用。

5 细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 的应用

虽早在 1967 年 Wolf 就于血液系统中发现了被称为“血小板尘埃 (platelet dust)”的 EVs,但直到近年, EVs 才成为干细胞旁分泌效应的研究焦点。EVs 由细胞所分泌,具有完整膜结构,且其中装载有多种蛋白质、核酸、脂质等物质,是细胞间信号传导的重要媒介。而由干细胞所分泌的 EVs 则被认为是干细胞旁分泌效应在多种病理状态下发挥治疗作用的关键^[31]。目前 EVs 已在肿瘤治疗、免疫调节、组织再生及药物运载等领域展现了良好的临床应用前景,但在 OA 及软骨修复领域所开展的研究尚处于起步阶段。

关于 EVs 的分类,目前学界仍未达成广泛共识。但多数学者将其中直接通过出芽方式释放,膜结构所表达标志物与亲代细胞相同的 EVs 称作微囊泡,其直径在 50 ~ 1 000 nm 范围内;而近年备受关注的外泌体,实则来源于细胞胞吞作用形成的内体。内体膜内陷后进一步形成多泡体,而后经胞吐作用释放至胞外,最终产生直径为 30 ~ 150 nm 的外泌体^[32]。目前与 EVs 相关的研究多围绕上述两种亚型展开。

5.1 外泌体的应用

外泌体作为近年生物医学领域的研究热点,在 OA 防治领域取得的研究成果也相对丰硕。外泌体对于膝关节 OA 的疗效,首先在一系列动物实验中得以彰显。Zhang 等^[15]开展的系列研究将胚胎干细胞来源外泌体应用于大鼠膝关节软骨缺损模型。术后 12 周,大鼠软骨缺损处有明显的新生透明软骨生成,且大体及组织学形态均显著优于对照组;并随后发现外泌体通过促进 CD73 介导 AKT 及 ERK 信号通路的腺苷活化,增强了软骨细胞的增殖和定向迁移能力;同时通过免疫调节作用促进更多 M2 表型巨噬细胞表达,并抑制 M1 表型以缓解关节腔内炎症反应。然而其促软骨基质合成的相

关机制仍不明确^[33]。Wang 等^[5]又将胚胎干细胞来源外泌体应用于小鼠膝部 OA 模型,证实其能有效促进软骨基质主要成分 II 型胶原的合成,同时抑制血小板反应蛋白解整合素金属肽酶 5 (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 5, ADAMTS-5; 软骨基质另一主要成分聚蛋白多糖的主要水解酶)的表达以维持软骨基质稳态,从而延缓关节软骨退变。

同时,研究者也关注到外泌体的来源对于其疗效具有一定影响。根据 Zhu 等^[34]的研究结果,诱导性多能干细胞所分泌外泌体,相较于滑膜干细胞来源外泌体,在体外实验中能更好地促进软骨细胞的增殖和迁移;而在小鼠膝关节 OA 模型中,诱导性多能干细胞来源外泌体对于关节软骨的保护作用也显著优于滑膜干细胞来源外泌体,并由此判断诱导性多能干细胞应是更为优质的干细胞外泌体来源。

为获取更为理想的外泌体来源,有研究者选择使用基因修饰手段对干细胞加以改造。Tao 等^[35]发现滑膜来源干细胞所释放外泌体在体外实验中,能通过 Wnt5a/b-YAP 信号通路增强软骨细胞的增殖和迁移能力,但同时抑制了 SOX9 基因的表达,从而使软骨基质的合成受限。对此,作者通过基因修饰手段使滑膜干细胞过表达微小 RNA (micro RNA, miR)-140-5p, 并发现经修饰的干细胞所分泌外泌体能有效抑制 RalA 蛋白的表达,从而逆转 SOX9 基因所受抑制,使软骨基质的合成效率得到恢复。在体内实验中,过表达 miR-140-5p 的干细胞所分泌外泌体对于 OA 大鼠的治疗效果,也显著优于未经修饰的干细胞所分泌外泌体。Mao 等^[36]则在体内外实验中证实,过表达 miR-92a-3p 的人 MSCs 所分泌外泌体能通过抑制 Wnt5a 的表达,从而促进损伤处的成软骨作用。而 Liu 等^[37]揭示了过表达 KLF3-AS1 的 MSCs 所分泌外泌体,可通过 miR-206/GIT1 通路抑制软骨细胞凋亡。

此外,现阶段动物实验所采用给药方法多为关节腔内注射。因关节软骨的再生以及对于膝关节 OA 的防治均非一日之功,但经注射进入关节腔的外泌体却无法长时间维持于病损处,因此注射需定期进行,增加了实验操作的繁杂程度以及关节腔内感染的风险。为此, Liu 等^[38]将干细胞来源外泌体与一种光诱导亚胺交联水凝胶进行整合,制成脱细胞组织补片,置于软骨缺损部位。结果表明,该补片能与周围软骨基质相互整合,并促使分化而成的软骨细胞及新生软骨基质沉积于受损部位,最终有

效促进了软骨缺损处的修复,为外泌体相关研究与生物材料领域的学科交叉提供了新思路。

5.2 微囊泡的应用

微囊泡在近年来被发现与胰岛素抵抗、2 型糖尿病的发病、动脉粥样硬化的形成密切相关,且对心血管代谢疾病具有一定的治疗作用^[39]。Cosenza 等^[40]于 2017 年首次对比了 BMSCs 分泌的微囊泡与外泌体在治疗 OA 中的疗效。该体外实验中,两者同样促进了软骨细胞基质的生成,抑制了 MMP-13 及 ADAMTS-5 等促软骨基质降解的酶的表达,也同时起到了抗炎、抗软骨细胞凋亡等作用,且两者的作用效果并无显著差异;两者注射于 OA 小鼠膝关节腔内所起到的抗炎效果及对关节软骨的保护作用亦是相当。在机制研究方面, Xiang 等^[41]证实, BMSCs 分泌的微囊泡能通过 SphK1-S1P-S1PR1 信号通路增强软骨细胞增殖能力,并抑制软骨细胞在炎性环境中的凋亡水平,且软骨细胞对于微囊泡的摄取是通过 CD44 糖蛋白进行介导。Tofiño-Vian 等^[42]则发现微囊泡通过上调膜联蛋白 A1 发挥了抗炎及软骨保护作用,逐步揭示了微囊泡与外泌体不同的作用机制。

6 结语

干细胞旁分泌效应对膝关节 OA 的治疗效果在不同层面的多项研究中都已有所彰显。其作用机制包括对关节腔内炎症反应、软骨细胞凋亡、软骨基质水解的有效抑制,以及促进软骨基质合成、原位固有干细胞向软骨细胞定向分化、并向损伤部位定向迁移等修复过程。然而目前仍少有研究对不同分泌组分间各自治疗疗效进行全面比对,或探究不同组分在治疗过程中的协同或拮抗等相互作用。此外,就现阶段研究结论而言,该疗法虽较传统干细胞疗法更为安全且经济,具有较高的临床转化价值,但其性能仍可通过基因修饰手段或辅以组织工程学手段进一步改良。且其治疗作用和安全性仍需在与人体膝关节运动模式更为相近的动物模型,例如山羊、灵长类动物体内等加以验证,方可进入临床研究阶段。

作者贡献: 陈闻波负责文献检索和初稿撰写; 蔡江瑜、孙亚英负责初稿的审阅和润色; 陈俊负责组织分配工作; 陈世益参与提出综述题目, 审阅指导全文的撰写并组织分配工作。
利益冲突: 所有作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。课题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。

参考文献

- Toh WS, Lai RC, Hui JHP, *et al.* MSC exosome as a cell-free MSC therapy for cartilage regeneration: Implications for osteoarthritis treatment. *Semin Cell Dev Biol*, 2017, 67: 56-64.
- Neogi T, Zhang Y. Epidemiology of osteoarthritis. *Rheum Dis Clin North Am*, 2013, 39(1): 1-19.
- Bijlsma JW, Berenbaum F, Lafeber FP. Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice. *Lancet*, 2011, 377(9783): 2115-2126.
- Mi B, Wang J, Liu Y, *et al.* Icaritin activates autophagy via down-regulation of the NF- κ B signaling-mediated apoptosis in chondrocytes. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 605.
- 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.
- Zhang W, Nuki G, Moskowitz RW, *et al.* OARS recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis: part III: Changes in evidence following systematic cumulative update of research published through January 2009. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(4): 476-499.
- McAlindon TE, Bannuru RR, Sullivan MC, *et al.* OARS guidelines for the non-surgical management of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage*, 2014, 22(3): 363-388.
- Rhon D. Re: Zhang W, Moskowitz RW, Nuki G, *et al.* OARS recommendations for the management of hip and knee osteoarthritis, Part II: OARS evidence-based, expert consensus guidelines. *Osteoarthritis Cartilage* 2008; 16: 137-62. *Osteoarthritis Cartilage*, 2008, 16(12): 1585, 1589.
- Jiang YZ, Zhang SF, Qi YY, *et al.* Cell transplantation for articular cartilage defects: principles of past, present, and future practice. *Cell Transplant*, 2011, 20(5): 593-607.
- Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB, *et al.* Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(12): 3464-3474.
- 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.
- Jo CH, 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. *Am J Sports Med*, 2017, 45(12): 2774-2783.
- Zhang S, Jiang YZ, Zhang W, *et al.* Neonatal desensitization supports long-term survival and functional integration of human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells in rat joint cartilage without immunosuppression. *Stem Cells Dev*, 2013, 22(1): 90-101.
- Nori S, Okada Y, Nishimura S, *et al.* Long-term safety issues of iPSC-based cell therapy in a spinal cord injury model: oncogenic transformation with epithelial-mesenchymal transition. *Stem Cell Reports*, 2015, 4(3): 360-373.
- Zhang S, Chu WC, Lai RC, *et al.* Exosomes derived from human embryonic mesenchymal stem cells promote osteochondral regeneration. *Osteoarthritis Cartilage*, 2016, 24(12): 2135-2140.
- Jin LH, Choi BH, Kim YJ, *et al.* Implantation of bone marrow-derived buffy coat can supplement bone marrow stimulation for articular cartilage repair. *Osteoarthritis Cartilage*, 2011, 19(12): 1440-1448.
- Wu L, Leijten JC, Georgi N, *et al.* Trophic effects of mesenchymal stem cells increase chondrocyte proliferation and matrix formation. *Tissue Eng Part A*, 2011, 17(9-10): 1425-1436.
- Fu Q, Ohnishi S, Sakamoto N. Conditioned medium from human amnion-derived mesenchymal stem cells regulates activation of primary hepatic stellate cells. *Stem Cells Int*, 2018, 2018: 4898152.
- Gnecchi M, He H, Noiseux N, *et al.* Evidence supporting paracrine hypothesis for Akt-modified mesenchymal stem cell-mediated cardiac protection and functional improvement. *FASEB J*, 2006, 20(6): 661-669.
- van Buul GM, Villafuertes E, Bos PK, *et al.* Mesenchymal stem cells secrete factors that inhibit inflammatory processes in short-term osteoarthritic synovium and cartilage explant culture. *Osteoarthritis Cartilage*, 2012, 20(10): 1186-1196.
- Platas J, Guillén MI, del Caz MD, *et al.* Conditioned media from adipose-tissue-derived mesenchymal stem cells downregulate degradative mediators induced by interleukin-1 β in osteoarthritic chondrocytes. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 357014.
- Platas J, Guillén MI, Pérez Del Caz MD, *et al.* Paracrine effects of human adipose-derived mesenchymal stem cells in inflammatory stress-induced senescence features of osteoarthritic chondrocytes. *Aging (Albany NY)*, 2016, 8(8): 1703-1717.
- Hassan Famián M, Montazer Saheb S, Montaseri A. Conditioned medium of Wharton's jelly derived stem cells can enhance the cartilage specific genes expression by chondrocytes in monolayer and mass culture systems. *Adv Pharm Bull*, 2017, 7(1): 123-130.
- Radin EL, Rose RM. Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage. *Clin Orthop Relat Res*, 1986, (213): 34-40.
- Chang W, Kim R, Park SI, *et al.* Enhanced healing of rat calvarial bone defects with hypoxic conditioned medium from mesenchymal stem cells through increased endogenous stem cell migration via regulation of ICAM-1 targeted-microRNA-221. *Mol Cells*, 2015, 38(7): 643-650.
- Griffith LG, Swartz MA. Capturing complex 3D tissue physiology *in vitro*. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(3): 211-224.
- Pei M, He F. Extracellular matrix deposited by synovium-derived stem cells delays replicative senescent chondrocyte dedifferentiation and enhances redifferentiation. *J Cell Physiol*, 2012, 227(5): 2163-2174.
- Pei M, Zhang Y, Li J, *et al.* Antioxidation of decellularized stem cell matrix promotes human synovium-derived stem cell-based chondrogenesis. *Stem Cells Dev*, 2013, 22(6): 889-900.
- Zhang Y, Li J, Davis ME, *et al.* Delineation of *in vitro* chondrogenesis of human synovial stem cells following preconditioning using decellularized matrix. *Acta Biomater*, 2015, 20: 39-50.
- Yang Y, Lin H, Shen H, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived extracellular matrix enhances chondrogenic phenotype of and cartilage formation by encapsulated chondrocytes *in vitro* and *in vivo*. *Acta Biomater*, 2018, 69: 71-82.
- 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.
- Li JJ, Hosseini-Beheshti E, Grau GE, *et al.* Stem cell-derived extracellular vesicles for treating joint injury and osteoarthritis.

- [Nanomaterials \(Basel\)](#), 2019, 9(2): pii: E261.
- 33 Zhang S, Chuah SJ, Lai RC, *et al.* MSC exosomes mediate cartilage repair by enhancing proliferation, attenuating apoptosis and modulating immune reactivity. [Biomaterials](#), 2018, 156: 16-27.
- 34 Zhu Y, Wang Y, Zhao B, *et al.* Comparison of exosomes secreted by induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells and synovial membrane-derived mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis. [Stem Cell Res Ther](#), 2017, 8(1): 64.
- 35 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.
- 36 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.
- 37 Liu Y, Lin L, Zou R, *et al.* MSC-derived exosomes promote proliferation and inhibit apoptosis of chondrocytes via lncRNA-KLF3-AS1/miR-206/GIT1 axis in osteoarthritis. [Cell Cycle](#), 2018, 17(21-22): 2411-2422.
- 38 Liu X, Yang Y, Li Y, *et al.* Integration of stem cell-derived exosomes with in situ hydrogel glue as a promising tissue patch for articular cartilage regeneration. [Nanoscale](#), 2017, 9(13): 4430-4438.
- 39 Lawson C, Vicencio JM, Yellon DM, *et al.* Microvesicles and exosomes: new players in metabolic and cardiovascular disease. [J Endocrinol](#), 2016, 228(2): R57-R71.
- 40 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.
- 41 Xiang C, Yang K, Liang Z, *et al.* Sphingosine-1-phosphate mediates the therapeutic effects of bone marrow mesenchymal stem cell-derived microvesicles on articular cartilage defect. [Transl Res](#), 2018, 193: 42-53.
- 42 Tofiño-Vian M, Guillén MI, Pérez Del Caz MD, *et al.* Microvesicles from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a new protective strategy in osteoarthritic chondrocytes. [Cell Physiol Biochem](#), 2018, 47(1): 11-25.

收稿日期: 2019-03-21 修回日期: 2019-07-25

本文编辑: 王雁