

## • 专家论坛 •

## 关节软骨损伤的修复和重建

赵建宁, 王瑞

(南京军区南京总医院军区骨科研究所, 江苏 南京 210002)

关键词 软骨, 关节; 损伤; 修复外科手术

**Repair and reconstruction of articular cartilage injuries** ZHAO Jian-ning WANG Rui The General Hospital of the Military District of PLA, Nanjing 210002, Jiangsu, China

**Key words** Cartilage, articular Injuries Reconstructive surgical procedures

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma 2007, 20(11): 729-731 www.zggssz.com

关节软骨为透明软骨, 其内无神经、血管和淋巴管分布, 为单一的结缔组织, 软骨细胞存在于软骨陷窝内, 主要依靠关节液而获得营养。成年后的关节软骨由于缺乏血供及未分化细胞, 损伤后依靠自身修复的能力很低。如何对成' 关节软骨的损伤进行修复重建, 恢复关节面的完整性, 重建关节功能, 防止关节退变, 一直是广大临床医生关注的课题。在实验及临床的研究中, 根据缺损的位置、分级以及患者的年龄等多种因素综合考虑, 有不同的方法可供选择。

### 1 软骨内固定术

对于一部分急性创伤所致关节软骨面的缺损, 尤其是大块软骨缺损, 可早期进行切开复位内固定治疗, 恢复关节面的完整性, 同时修复关节周围骨、韧带、关节囊、滑膜等组织的损伤。对于塌陷的软骨下骨, 可通过植骨恢复其支撑作用, 使软骨下骨能够达到骨性愈合的目的, 固定应该可靠, 尽量减少软骨面之间的裂隙。虽然术后骨与软骨的骨折可以达到临床愈合, 但多数患者的关节软骨在受到创伤后退变加快, 并发展成为创伤性关节炎。

### 2 骨髓刺激术

通过在缺损局部钻孔、磨削以及造成微骨折, 使缺损部位与软骨下骨质相通, 其目的是动员骨髓内具有成软骨潜能的各种细胞增殖分化来达到修复重建的目的。不一为软骨修复提供营养物质和生长因子的供应, 而且在局部形成的血凝块可以充当软骨修复的支架。利用这种方法可以在局部形成紧密的纤维软骨组织连结<sup>[1]</sup>, 理化和生物学特性均不同于正常软骨组织, 且有进一步退变、软化及 II 期骨化的问题。故虽短期内对于关节疼痛症状缓解似较明显, 有报道称, 60% ~ 75% 的患者在至少术后 3 年内得到了症状的缓解<sup>[2]</sup>, 但远期效果仍不满意。另外, 由于骨髓刺激术是利用骨髓间充质细胞的分化以及软骨下骨的血供来完成修复过程, 因此受到患者年龄、缺损的部位以及范围等多种因素影响。退变性的关节软骨缺损治疗效果较差, 超过 50 岁的患者成为相对禁忌证。目前通过生长因子和生物学手段, 调节多能干细胞的分化而形成正常生理功能的透明软骨细胞, 可提高骨髓刺激术的治

疗效果, 如胰岛素生长因子能够使关节面磨削后° 生的纤维组织进一步向关节软骨组织转化<sup>[3]</sup>。

### 3 关节镜下关节灌洗和清理术

由最初的关节切开清理术逐渐演变而来, 多用于慢性退变性、且较重的关节软骨面缺损。通过彻底排出关节积液, 冲出关节腔内炎症物质和降解软骨基质的各种酶, 可清除游离体、软骨碎片及肉芽组织, 能够延缓关节置换的时间。通过去除缺损软骨表面病变组织直至软骨下骨暴露, 使新鲜胶原暴露与纤维蛋白凝块结合, 从而促进软骨修复。修复后的关节软骨在短期内可缓解患者的临床症状, 有报道 50% 的患者 2 年后的 X 线检查发现关节间隙有增宽改变<sup>[4]</sup>。但是, 由于修复后的组织会发生软化、退变, 承受关节面剪应力及压应力的能力下降, 导致其疗效下降。同时, 关节镜技术也为其他的软骨修复方法开辟了便利的条件。

### 4 降低关节面应力及保持关节活动

膝关节在内翻超过 5°, 外翻超过 12° 时, 或患者在术前需扶拐行走, 较肥胖时, 可以联合进行截骨治疗, 来改善肢体负重力线, 纠正对关节面损害的易患因素。同时进行关节活动的功能锻炼也很重要, 可以降低关节压力并保持关节活动可促进新的软骨的形成, 并有助于症状的改善, 同时还可防止关节的纤维强直和骨性强直。包括限制负重、每天 6~8 h 的持续被动的关节运动、局部冷敷、术后短期的皮肤牵引等, 以便减轻局部肿胀疼痛的症状, 为基质和细胞提供所需的正常机械刺激, 也为软骨细胞提供营养的滑液泵作用。

### 5 移植技术

**5.1 细胞移植** 用于移植的细胞主要有自体软骨细胞, 异体软骨细胞, 间充质干细胞 (mesenchymal stem cells MSCs)<sup>[5]</sup> 等。移植后的自体或异体的细胞可以在缺损处增殖、分裂、分化, 分泌合成新的软骨基质, 形成透明软骨, 充填缺损, 对于非全层的软骨缺损, 该方法避免了血液中的成纤维细胞所带来的纤维修复过程。而对于全层软骨缺损, 采用间充质干细胞修复时, 由于后者作为一种组织干细胞, 具有多向分化性, 故可同时完成骨与软骨的修复。目前自体软骨细胞移植术 (autologous chondrocyte transplantation, ACT) 已经获得美国

FDA的批准应用于临床治疗,在瑞典,ACT技术已经使数千名患者从中受益。但这项技术禁用于炎性病变所致的缺损,或大面积的软骨面缺损,多用于局部创伤性关节软骨缺损。细胞生物反应器培养技术的出现和发展及软骨细胞永生化的研究,一定程度解决了供体细胞的来源和去分化<sup>[6]</sup>(dedifferentiation)问题。单纯的游离细胞移植<sup>[7]</sup>易流失,故常联合应用其他方法如骨膜和软骨膜移植。近年来随着对具有全能分化特性的干细胞——胚胎干细胞(embryonic stem cells, ES)研究的兴起,软骨损伤的细胞移植修复,将迈进一个新阶段。

**5.2 软组织移植** 用于移植的软组织可为筋膜、关节囊、肌肉、骨膜和软骨膜<sup>[8]</sup>等,以后两者为常用。软组织移植可防止移植过度负荷,有助于新的细胞群及基质的植入,在新的关节面形成前防止发生关节强直。此外骨膜及软骨膜内还含有未分化的多能干细胞,具有向关节软骨分化增生的特性,将其覆盖于缺损区,可产生新的透明软骨。但是单纯的骨膜及软骨膜移植疗效不佳,Boonmester等<sup>[9]</sup>用纤维蛋白胶粘贴软骨膜治疗 88例膝关节软骨缺损,平均随访 4年,良好~38%,近年来多用于支撑固定移植体和作为细胞移植的支架材料<sup>[10]</sup>。

**5.3 软骨/骨软骨移植** 适用于缺损深度达软骨下骨及较大面积软骨缺损的治疗,能提供完整的关节软骨基质和有活力的软骨细胞,恢复关节外形、缓解疼痛。自体软骨移植<sup>[11]</sup>供体取材来源非常有限,但移植效果较好。镶嵌成形术(autologous osteochondral mosaicplasty)运用自身关节非负重区的多个柱状骨与软骨条块对缺损处进行填充修复,具有活性的自身软骨细胞连同基质及软骨下骨在缺损区成活率较高,并维持了透明软骨的生物学特性,玛塞克镶嵌方法可以提高自体骨与软骨的利用率,扩大填充面积<sup>[12]</sup>。自开始应用以来,在全球范围内取得了较为良好的效果,并在 1998年欧洲运动创伤膝关节外科和关节镜会议上得到了推广。适用于较小缺损(1~4 cm<sup>2</sup>)的病变,最好在关节镜下进行,必要时可切开操作。但术后需要康复的时间长,对操作技术要求高,也没有绝对的非负重区来获取骨与软骨块,而且对缺损处镶嵌时易造成周围正常软骨的损伤<sup>[13]</sup>。异体软骨移植<sup>[14]</sup>供体材料获得相对较易且可预制成任意形状和大小,因此更为常用,但同时也增加了传播疾病的风险。关节软骨特别是软骨细胞仍具有一定的抗原性,能够激发免疫反应,造成排异反应,但因为软骨内缺乏免疫细胞,且软骨细胞被胞外基质所包绕,完整的基质可限制免疫反应对周围正常关节软骨作用,故软骨移植引发的排异反应相对较轻。经过冷冻的关节软骨抗原性可明显降低,但在冷冻及解冻过程中产生的冰晶对细胞产生的损害,影响了植入后的存活率。虽然目前采用的计算机程序控制降温技术,以及抑制冰晶形成的保护剂(如二甲亚砜、甘油等)的使用,一定程度上克服了这一问题。Jockson等<sup>[15]</sup>发现虽然新鲜软骨移植体内软骨细胞活性在 3周后减低,但可存活 1年以上,最长 12年后仍存活。但是,移植软骨/骨软骨的长期稳定性及与宿主组织结合的问题,还有待于进一步研究。

## 6 组织工程化软骨的构建与替代

组织工程<sup>[16]</sup>(tissue engineering)是一门应用工程学和生命科学的原理和方法来研究正常或病理状况下哺乳动物组织的结构、功能和生长的机制,研究开发能够修复、维持或改善

损伤组织的'工生物替代的新兴综合性交叉学科。从技术方法角度来讲,组织工程学是一门以'工合成支架材料为载体整合被分离细胞并能在宿主体内降解释放细胞,形成新的有功能组织的科学。软骨组织工程包括 3个方面:种子细胞的选择、支架材料的应用、合适的培养环境。

种子细胞的类型与用于移植的细胞类型相似,自体软骨细胞分离培养简单,同源性好,原代单层培养的软骨细胞能够表达 II型胶原和可聚蛋白多糖等特异细胞外基质达数周,但体外多次培养容易'生表型退化,表达 I型胶原为主,丧失分泌软骨基质的功能。目前研究和应用较多的是 MSCs, MSCs来源于骨髓、骨膜、软骨膜和肌腱等处,具有多向分化潜能<sup>[17]</sup>,且具有高度的进化保守性,不同种属的 MSCs根据诱导环境的不同均可分化为成骨细胞、脂肪细胞、软骨细胞、肌细胞、肌腱细胞、内皮细胞、真皮细胞、神经细胞等中胚层组织<sup>[18-19]</sup>,最近的研究还发现 MSCs具有免疫调节功能<sup>[20]</sup>。运用 MSCs作为种子细胞的优势是:①因其扩增迅速,并能保持分化能力,故所需的起始种子细胞数量低;②获取 MSCs的操作简单,损伤小;③由自体 MSCs得到的工程软骨可以避免免疫排斥反应,而异体的 MSCs由于不表达 B7等共刺激抗原,有免疫豁免权<sup>[21]</sup>;④条件适合时, MSCs可同时向骨和软骨方向分化,既可修复关节软骨面的缺损,也可修复同时伴有的软骨下骨的缺损;⑤虽然该细胞占整个骨髓单个核细胞总数的比例随着年龄的增长逐渐下降,但在体外培养的条件下其自我增殖、多向分化、以及基质合成的能力基本保持不变<sup>[2]</sup>。

支架材料作为'工的细胞外基质(extracellular matrix, ECM),主要作用是模拟细胞体在其内生长的空间,为细胞形成软骨提供一个继续增殖分化的微环境。20世纪 80年代以来,'们在认识到植入物和周围组织间相互作用的重要意义后,修正了生物材料必须是生物惰性物质的不正确认识,在设计生物材料时更多地将材料科学同免疫学和细胞生物学知识相结合,设计和研制了可降解、具有生物学活性和功能的高分子材料,推动了组织工程研究的进展。理想的生物支架材料应满足<sup>[23]</sup>:①良好的生物相容性,材料本身及其降解'物均无毒副作用;②材料的降解速率与种植入的细胞组织再生速率相匹配;③可被制备成多孔、'水的孔性结构,具有一定的坚韧性,易于成形;④能够维持黏附着的种子细胞的形态和表型。目前常用的支架材料按其来源分为天然支架材料(胶原、脱钙骨基质等)、'工合成支架材料(聚乳酸、聚羟乙酸、磷酸三钙等)和复合支架材料。其中,复合材料是同时使用 2种或 2种以上的不同材料,或对已有的材料进行物理化学(如包埋、'联、杂化、离子注入等)和生物学(药物活化、基因活化、信号分子活化等)方法改性和仿生处理,保留其优点,克服其缺点,从而形成的新材料,具有优良的特性,正成为学者们关注的热点。

种子细胞的体外培养环境主要有:无支架培养、三维立体培养、微载体系统培养、以及生物反应器培养。后者不同于目前广泛使用的静止培养体系,至少有 3个优点:①特殊的液体流动方式有助于提高细胞在三维支架上的空间分布一致性;②有助于提高生物大分子的运输效率,使营养'换和物质传递处于动态的平衡状态;③在软骨形成过程中提供应力刺激。

生物反应器根据原理不同又可分为: 搅拌式生物反应器系统、灌注式生物反应器系统、旋转生物反应器系统 (RCCS) 等, 其中 RCCS 被认为尤其适合软骨组织工程的培养<sup>[24]</sup>。

## 7 生长因子的应用

正常成熟关节软骨的代谢是在软骨细胞或滑膜组织中分泌的生长因子相互作用下进行联合调控的, 软骨组织在损伤后的修复过程中也需要多种生长因子的参与, 而此时内源性的生长因子由于种种原因往往难以满足需要, 故外源性生长因子在关节软骨缺损的治疗中正逐渐受到重视<sup>[25]</sup>。在软骨缺损的治疗过程中, 采用一定的方法, 适时适量地引入特定的生长因子, 有助于软骨缺损的修复与重建。导入的生长因子主要分为调控软骨细胞增殖的因子和调控软骨细胞分化的因子, 目前研究的热点是多个因子的联合应用, 及各因子间的时空和量效关系。

## 8 基因治疗

外源性生长因子半衰期短, 局部使用很快被稀释和代谢, 需反复使用, 价格昂贵, 且治疗剂量相对较大, 从而带来许多相应的问题。随着转基因技术的发展, 可在不影响细胞特殊表型的前提下, 将编码生长因子的基因导入目的细胞中, 通过基因表达, 内生源性生物活性物质, 调控自身增殖分化, 将细胞治疗和基因治疗结合了起来, 并将其应用于组织工程修复软骨的工作中去, 提出了基因加强的组织工程 (gene-enhanced tissue engineering)<sup>[26]</sup>的新理念。该体系不一具有高效可控、价格低廉等优点, 而且, 与重组生长因子的原核表达体系 (少数也可于酵母等低等真核体系中表达) 不同的是, 体细胞被转染后表达的蛋白经过了正确的折叠和修饰, 而且不形成包涵体, 生物效价更高。已有多项将单一生长因子转入种子细胞并取得较高表达和较好效果的报道<sup>[27]</sup>。常使用的基因载体可分为病毒类和非病毒类, 主要的导入方式有体内和体外 2 种模式。

对于成' 关节软骨缺损的治疗, 应根据患者的年龄、关节软骨缺损的分级以及部位、患者的具体要求来选择不同的治疗手段, 在解决患者症状的同时, 尽量恢复缺损处的生物学特性。但在各种治疗方法的疗效评价上意见仍不一致, 对修复后组织的评估标准还不统一。应有更多的研究来寻求符合' 体要求的修复组织或替代物, 预防或减慢关节软骨退变的程度, 改善关节的功能, 提高患者的生活质量。

## 参考文献

- Grande DA, Breitbart AS, Mason J, et al. Cartilage tissue engineering: current limitations and solutions. *Clin Orthop Relat Res* 1999; 367 (Suppl): 176-185.
- Peterson L. Articular cartilage injuries treated with autologous chondrocyte transplantation in the human knee. *Acta Orthop Belg* 1996; 62 (Suppl 1): 196-200.
- Nixon AJ, Fortier LA, Williams J, et al. Enhanced repair of extensive articular defects by insulin-like growth factor I - laden fibrin composites. *J Orthop Res* 1999; 17(4): 475-487.
- Hunt SA, Jazrawi LM, Sherman OH. Arthroscopic management of osteoarthritis of the knee. *J Am Acad Orthop Surg* 2002; 10(5): 356-363.
- Naumann A, Dennis J, Staudemaier R, et al. Mesenchymal stem cells: a new pathway for tissue engineering in reconstructive surgery. *Laryngol Rhinol Otol* 2002; 81(7): 521-527.

- Saadeh PB, Brent B, Mehrara BJ, et al. Human cartilage engineering: chondrocyte extraction, proliferation and characterization for construct development. *Ann Plast Surg* 1999; 42(5): 509-513.
- Peterson L, Brittberg M, Kiviranta I, et al. Autologous chondrocyte transplantation: Biomechanics and long-term durability. *Am J Sports Med* 2002; 30(1): 2-12.
- Bouwmeester PS, Kuijter R, Hommenga GN, et al. A retrospective analysis of two independent prospective cartilage repair studies: autogenous perichondrial grafting versus subchondral drilling 10 years post surgery. *J Orthop Res* 2002; 20(2): 267-273.
- Bouwmeester SJ, Beckers JM, Kuijter R, et al. Long-term results of rib perichondrial grafts for repair of cartilage defects in the human knee. *Int Orthop* 1997; 21(5): 313-317.
- Shawn W, James S, Fitzsimmons BS, et al. The role of periosteum in cartilage repair. *Clin Orthop Relat Res* 2001; 391 (suppl): 190-207.
- Gautier E, Koller D, Jakob RP. Treatment of cartilage defects of the tibia by autologous osteochondral grafts. *J Bone Joint Surg (Br)* 2002; 84(2): 237-244.
- Hangody L, Feczko P, Bartha L, et al. LM osaicplasty for the treatment of articular defects of the knee and ankle. *Clin Orthop Relat Res* 2001; 391 (suppl): 328-336.
- Outebidge HK, Outebidge RE, Smith DE. Osteochondral defects in the knee: A treatment using lateral patella autografts. *Clin Orthop Relat Res* 2000; 377: 145-151.
- Aubin PP, Cheah H K, Davis AM, et al. Long-term follow up of fresh femoral osteochondral allografts for posttraumatic knee defects. *Clin Orthop Relat Res* 2001; 391 (Suppl): 318-327.
- Jackson DW, Habrecht J, Proctor C, et al. Assessment of donor cell and matrix survival in fresh articular cartilage allografts in a goat model. *J Orthop Res* 1996; 14(2): 255-264.
- Luis A, Solchaga PD, Victor M, et al. Cartilage regeneration using principles of tissue engineering. *Clin Orthop Res* 2001; 391 (suppl): 161-170.
- Ringe J, Kaps C, Schmitt B, et al. Porcine mesenchymal stem cells: Induction of distinct mesenchymal cell lineages. *Cell Tissue Res* 2002; 307(3): 321-327.
- Pittenger MF, Mosca JD, McIntosh KR. Human mesenchymal stem cells: progenitor cells for cartilage, bone, fat and stroma. *Curr Top Microbiol Immunol* 2000; 251: 3-11.
- Bianco P, Robey PG. Stem cells in tissue engineering. *Nature* 2001; 414(6859): 118-121.
- Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exp Hematol* 2002; 30(1): 42-48.
- Van Damme A, Vanden Driessche T, Collen D, et al. Bone marrow stromal cells as targets for gene therapy. *Curr Gene Ther* 2002; 2(2): 195-209.
- Martin I, Padera RF, Vunjak-Novakovic G, et al. In vitro differentiation of chick embryo bone marrow stromal cells into cartilaginous and bone-like tissues. *J Orthop Res* 1998; 16(2): 181-189.
- James R. Tissue engineering with chondrocytes. *Facial Plastic Surg* 2002; 18: 59-68.
- Vunjak-Novakovic G, Searby N, DeLuis J, et al. Microgravity studies of cells and tissues. *Ann NY Acad Sci* 2002; 974: 504-517.
- Wim B, Peter M, Henk M, et al. Growth factors and cartilage repair. *Clin Orthop Res* 2001; 391 (suppl): 244-250.
- Musgrave DS, Fu FH, Huard J. Gene therapy and tissue engineering in orthopaedic surgery. *J Am Acad Orthop Surg* 2002; 10(1): 6-15.
- Mady H. Gene transfer in cruciate ligament surgery: Natural science-based principles and possible clinical applications. *Orthopedic* 2002; 31(8): 799-809.