

· 综述 ·

关节软骨损伤生物学修复的研究进展

代岭辉¹, 杜宁²

(1.上海交通大学医学院附属瑞金医院伤科, 上海 200025; 2.上海金木生物科技有限公司)

【摘要】 随着社会的现代化进程和人口的老齡化, 由于外伤和退变引起的关节软骨损伤患者显著增多, 为此如何解决关节软骨修复的问题日益显得重要。本文主要对关节软骨损伤的生物愈合与再生的研究进展做一综述。

【关键词】 软骨, 关节; 创伤和损伤; 修复外科手术; 综述文献

Progress of research for the biological cicatrisation and regeneration of the articular cartilage defects DAI Ling-hui, DU Ning*. *The Jinmu Biology Technology Limited Company of Shanghai, Shanghai 200025, China

ABSTRACT Along with society of modernization and the ageing of population, the amount of the sufferer of articular cartilage defects caused by trauma or degeneration show a clearly increase, how to solve the problem of repair of articular cartilage defects seems to be important. This review will focus on the progress of research for the biological cicatrisation and regeneration of the articular cartilage defects.

Key words Cartilage, articular; Wounds and injuries; Reconstructive surgical procedures; Review literature

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2009, 22(9): 721-724 www.zggszz.com

关节软骨属于透明软骨, 创伤和手术等所致的软骨损伤或缺损很难自我修复, 或以纤维软骨、纤维组织所填充替代。软骨没有血供, 没有神经组织和淋巴系统, 营养来源于关节液。软骨只有一种细胞成分即软骨细胞, 所有软骨基质均由软骨细胞合成, 软骨细胞相对于基质来说含量较少, 代谢活性低, 因此软骨自身缺乏有效的修复能力。为了寻找修复软骨损伤的最佳方法, 人们在动物实验和临床研究中开展了大量的工作^[1]。关节软骨损伤的生物学修复是最理想的方法。目前有 2 种方法在理论上可促进软骨的生物学修复: 一种方法是激发受损关节软骨和软骨下骨自身的修复潜能; 另一种方法是通过移植软骨细胞或移植能产生软骨的细胞或组织, 使受损关节软骨修复。本文主要对软骨损伤的生物学修复的研究做一综述。

1 刺激关节软骨再生与修复技术

1.1 软骨下骨钻孔、磨蚀关节成形术和微骨折成形术 通过软骨下骨钻孔、磨蚀受损的关节软骨层、在软骨下骨制造微骨折的方法, 可造成髓腔内小血管破裂, 血液在软骨缺损区表面形成一层纤维性凝块, 使因损伤而产生的纤维蛋白凝块和有分化潜能的骨髓干细胞充填缺损部位, 从而促进关节软骨和软骨下骨的自身修复^[2]。关节镜下采用微骨折技术在治疗创伤性关节软骨缺损和骨性关节炎患者中取得了一定疗效。近年来报道在髌关节和踝关节应用微骨折技术治疗软骨缺损效果也令人满意^[3-4]。虽然经软骨下骨钻孔形成的软骨其外观很接近正常软骨, 但这种方法修复的软骨形成的是纤维软骨而非透明软骨, 无论在结构上, 还是生物力学特性上均与正常

软骨相去甚远^[5-6]。

1.2 物理疗法

1.2.1 受损关节的持续被动活动 持续被动活动有利于减少蛋白多糖从软骨基质中快速丢失, 加速关节内有害物质的清除, 改善关节及周围组织营养代谢, 刺激具有双重分化能力的细胞向关节软骨转化, 刺激软骨细胞增生。软骨基质中蛋白多糖有吸水膨胀的特性, 这使软骨能像海绵一样在没有受到压力时将关节液中的营养成分随同关节液吸入软骨, 当受压变扁时, 又将代谢废物随关节液挤出软骨。如果将软骨下血供引入软骨缺损区, 虽然缺损区增生活跃, 但修复组织是很容易再次退变的纤维软骨; 如果将血供引入软骨缺损的同时, 让受累关节做持续被动运动, 则修复组织在形态和组成上更接近透明软骨。这说明透明软骨的形成或者说修复组织在向透明软骨转化的过程中可能不需要血供, 生理性的压应力才是诱导增生细胞向透明软骨细胞转化的重要因素^[7]。1970 年 Salter 等^[8]提出对滑膜关节使用持续被动活动 (continuous passive motion, CPM) 这一生物学概念, 以解决 OA 的防治问题, 并进行了 16 年的基础研究和 8 年的临床应用, 证实 CPM 能刺激关节软骨的愈合或重建, 预防关节退变, 治疗关节僵硬。实验证明 CPM 能促进全层软骨缺损愈合, 并在组织形态学和组织化学上类似透明软骨。最近的研究表明, 在体内和体外, CPM 可以刺激软骨细胞, 使软骨细胞生物合成 PRG4 (proteoglycan 4) 的量增加^[9-10]。现在 CPM 广泛应用于自体软骨细胞移植术、微骨折术后的康复, 有防止关节僵直和增加关节活动度的作用^[11-12]。然而, CPM 在软骨细胞代谢上的直接影响仍有待于进一步研究。

1.2.2 激光 骨软骨缺损接受低剂量的激光能量其修复效

果要优于对照组未经处理的损伤^[13]。新的研究表明,低剂量激光能显著增强修复组织的生物力学性能^[14]。但这种软骨细胞对低剂量激光能量反应的机制仍不清楚,而且由于缺乏相关研究,无法评价激光应用于软骨损伤修复的疗效。

1.3 药物因素 临床上在关节腔内注射 3 类药物可明显影响关节软骨的再生,即为皮质类固醇、透明质酸及生长因子。现公认固醇类激素能影响软骨的正常生理功能而导致软骨萎缩。透明质酸可以代替关节腔的滑液,为关节软骨提供营养,减轻关节软骨的退变^[15]。许多临床报道显示,关节腔内注射透明质酸对于早期到中期骨关节炎软骨损伤不重的患者,可以明显减轻疼痛^[16-17]。许多体外实验已经证实生长因子能促进关节修复^[18]。单纯应用细胞生长因子促进软骨修复时,细胞生长因子很容易在软骨缺损修复处被冲淡稀释,甚至丢失以致不能发挥作用。因此人们应用人工基质将细胞因子限制其中并运载软骨缺损修复处,以增加局部含量。目前已有多种无机物和有机物可为人工基质,如胶原、碳纤维、聚四氟乙烯、羟基磷灰石、胶原和透明质酸纤维蛋白、聚酯等,但效果都不十分理想。现在有许多学者将载有基因修饰的促进软骨细胞生长的细胞因子的人工基质载体植入软骨缺损处,时控调节这些因子的释放从而促进软骨细胞的持久修复^[19]。如何保持细胞因子在关节内持久存在并长期表达仍是目前研究的热点问题。

2 移植修复技术

移植修复是用移植软骨细胞或移植能产生或形成软骨组织的细胞、组织或组织嵌合体的方法来促进软骨修复。

2.1 软骨细胞移植 人们应用移植自体或异体的软骨细胞填补于软骨缺损处,使移植细胞在缺损处增殖、分裂和分化成新的软骨基质,形成透明软骨,避免了软骨下骨钻孔等方法修复软骨时,由于血液中成纤维细胞所带来的纤维修复过程。根据移植细胞来源不同分为自体软骨细胞移植和异体软骨细胞移植。

2.1.1 自体软骨细胞移植 自体软骨细胞移植在国内外研究已经有 20 年的历史。自体关节软骨细胞移植可避免免疫反应或者疾病传染的问题,但可以选取的细胞数目有限。自体软骨细胞移植术 (autologous chondrocyte implantation, ACI) 早在 1988 年就已有关动物实验模型报道,人的 ACI 手术在 1994 年起开始应用,目前 ACI 已经获得美国食品药品监督管理局 (FDA) 的批准应用于临床。2003 年 Marcacci 等^[20]报道实施自体软骨细胞移植术已经超过了 400 多例。Henderson 等^[21]报道实行自体软骨细胞移植后修复组织均为透明软骨修复。Gillgoly^[22]报道了 100 例实行自体软骨细胞移植患者,术后 92% 患者康复效果满意,随访 2 年,仍有 80% 临床效果满意,随访 7.5 年,78% 临床效果满意。但自体软骨细胞来源有限,取材不方便 (需关节镜或手术取材),常规培养传代和增殖能力有限,体外培养易发生去分化现象,且其活性随年龄增长而明显下降^[23]。而且,还需要有研究进一步证实这种修复的透明软骨组织的生物学特性是否完全与正常关节软骨相同,它是否可延缓软骨退变的病程。对于年龄大的患者,软骨细胞修复关节软骨的能力是否会有所下降等问题。

2.1.2 异体软骨细胞移植 由于自体软骨细胞的来源有限,

有学者研究异体软骨细胞移植,这种方法不仅解决了软骨细胞来源不足的缺点,而且同自体软骨细胞移植相比还可以减少损伤。有学者在家兔体内进行异体软骨细胞移植取得了良好的效果^[24]。随着保存技术的进步,冷冻保存过的异体软骨细胞的存活率及回收率有了很大提高^[25]。这将使异体软骨细胞移植的应用越来越广泛,但是异体软骨细胞移植还要解决免疫反应和传染疾病的问题。

2.2 软组织移植 常用来移植修复软骨缺损的软组织有骨膜、软骨膜自体或异体骨软骨嵌合体等。软组织移植优点是防止移植过度负荷,有利于新细胞群及基质的生长。

2.2.1 骨膜及软骨膜移植 骨膜及软骨膜内含有具有分化潜能的多能干细胞,可以分化为关节软骨细胞,覆盖于缺损区,产生透明软骨。同时骨膜及软骨膜可作为其他细胞和细胞生长因子粘附的支架并产生细胞因子,加速关节软骨修复。许多动物实验已经证实,应用骨膜移植可以修复出透明软骨组织^[26-27]。但是, Madsen 等^[28]报道了膝关节剥脱性骨软骨炎骨膜移植 18 例,其中 8 例 (44%) 术后 8 年中分别由于活动受限、滑膜炎或膜内骨化的骨赘形成而再次手术,仅 2 例疼痛缓解。认为该方法疼痛缓解率差,再手术率高,不宜采用。Bouwmeester 等^[29]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%,可 8%,差 55%。疗效差与移植过度生长、钙化或术前存在骨关节炎有关。目前有在人体内应用骨膜移植与新鲜骨髓联合移植治疗膝关节软骨缺损成功的报道^[30]。但是单纯的骨膜或软骨膜移植效果较差,而且随着近年组织工程学的发展,单纯的骨膜或软骨膜移植均趋于淘汰。

2.2.2 自体或异体骨软骨 (嵌合体) 移植 骨软骨移植适用于深度达软骨下骨及面积较大的软骨缺损。骨软骨移植的优点在于它能将完整的正常关节软骨移植于关节缺损处,提供完整的关节软骨基质和有活力的软骨细胞,恢复关节的外形。这样对于有关节软骨缺损或关节畸形的患者,可减轻关节软骨的损害程度并缓解疼痛。Hangody 等^[31]将接受自体镶嵌式骨软骨移植与钻孔术、关节成形术、微骨折 413 名患者进行了多中心、比较性研究,证实自体镶嵌式骨软骨移植较其余 3 种治疗方法有长期明显优良的临床疗效。骨软骨移植是修复关节负重区全层软骨损伤的较理想的方案,特别是对运动量大的年轻患者。其缺点是牺牲了其他部位的正常软骨。

由于自体软骨移植取材来源非常有限,异体骨软骨移植很好地解决了这个问题。Aubin 等^[32]应用新鲜异体骨软骨移植治疗了 72 例股骨髁远端的软骨损伤,其中 60 例获得了平均 10 年的长期随访,结果有 85% 的患者移植体存活,关节功能良好,但新鲜的异体骨软骨不易获得。虽然新鲜冷冻、冷冻干燥等方法可以适当延长保存时间,但是经过冷冻的关节软骨抗原性会明显降低,而且在冷冻及解冻过程中产生的冰晶会对软骨细胞产生损害,影响植入后的存活率。此外还有免疫反应和传染疾病的因素。

2.3 未分化细胞移植 细胞移植细胞可选择自体软骨细胞,也可选择软骨膜细胞、骨膜细胞和骨髓细胞,它们能在体内经过一系列的细胞转变最终分化为具有损伤区细胞表型的软骨细胞。但这种软骨细胞与原始的软骨细胞还是存在着一些差

别,易发生钙化和骨化。

2.3.1 间充质细胞移植治疗 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)在骨髓、骨膜、软骨膜等处均大量存在,它具有多向分化潜能,在不同的条件下可分化成软骨细胞、成骨细胞、成纤维细胞等。它们传代繁殖能力强,连续多次传代仍可保持良好的增殖分化活性,与基质材料复合植入体内后可在新生组织上部形成良好的透明样软骨,而在软骨下区则形成骨组织,从而可达到很好的整合。其中,骨髓基质干细胞(bone marrow stromal cells, BMSC)取材方便,分离和培养简单,目前多应用于软骨组织工程中作为种子细胞。日本学者 Wakitani 等^[33]用自体同源的骨髓基质细胞移植来修复患者膝关节的全厚度关节软骨缺损,共进行 2 例,移植 6 个月后,患者临床症状明显改善,并且在 1 个病例中这种改善作用维持 5 年 9 个月,另 1 个维持 4 年。提示 MSC 对于治疗关节软骨缺损有用,但仍需不断改进实验方法以改善新生软骨的厚度及机械强度等,使新生软骨细胞与原有软骨细胞表型一致,且与周围组织整合良好。

2.3.2 胚胎干细胞移植治疗 胚胎干细胞(embryonic stem cells, ES)是全能干细胞,可分化成全身 200 多种细胞,虽然到目前为止还不能在体外被定向诱导分化为软骨细胞,但鉴于其全能性,还是有不少学者对其进行研究。Wakitani 等^[34]将 ES 细胞移植到免疫抑制大鼠的膝关节软骨缺损处,结果发现移植后 4 周缺损被修复,直至第 8 周末出现畸形,并且证实修复组织来源于移植的细胞。这一结果为关节软骨缺损修复又提供了一种新的细胞来源,与其相关的研究将成为新的研究热点。

3 展望

随着现代医学研究手段的进步,人们对促进软骨损伤的修复方法的研究不断增多,但是还是缺乏一种有效的修复软骨损伤的方法。虽然有些方法已经证实所修复组织是透明软骨,但是透明软骨并不意味着所修复组织的生物学特性与正常软骨相同,而且许多方法缺乏长期的临床观察。随着对关节软骨损伤、缺损病理生理研究的逐步深入,寻找到一种令人满意的软骨损伤的生物学修复方法将是我们未来努力的方向。

参考文献

- [1] Smith GD, Knutsen G, Richardson JB. A clinical review of cartilage repair techniques. *J Bone Joint Surg Br*, 2005, 87(4): 445-449.
- [2] Steadman JR, Rodkey WG, Rodrigo JJ. Microfracture: surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects. *Clin Orthop Relat Res*, 2001, 391(Suppl): S362-369.
- [3] Philippon MJ, Schenker ML, Briggs KK, et al. Can microfracture produce repair tissue in acetabular chondral defects? *Arthroscopy*, 2008, 24: 46-50.
- [4] Chuckpaiwong B, Berkson EM, Theodore GH, et al. Microfracture for osteochondral lesions of the ankle: outcome analysis and outcome predictors of 105 cases. *Arthroscopy*, 2008, 24: 106-112.
- [5] Martinek V, Ueblacker P, Imhoff AB. Current concepts of gene therapy and cartilage repair. *J Bone Joint Surg Br*, 2003, 85(6): 782-788.
- [6] Gudas R, Kalesinskas RJ, Kimtys V, et al. A prospective randomized clinical study of mosaic osteochondral autologous transplantation versus microfracture for the treatment of osteochondral defects in the knee joint in young athletes. *Arthroscopy*, 2005, 21: 1066-1075.
- [7] 徐传达. 实用临床骨缺损修复应用解剖学. 第 2 版. 北京: 中国医药科学技术出版社, 2000. 169-186.
- [8] Salter RB, Simmonds DF, Malcolm BW, et al. The biological effect of continuous passive motion on the healing of full-thickness defects in articular cartilage. An experimental investigation in the rabbits. *J Bone Joint Surg Am*, 1980, 62(8): 1232-1251.
- [9] Wang WW, Vega KI, Klein TJ, et al. Continuous passive motion applied to whole joints stimulates chondrocyte biosynthesis of PRG4. *Osteoarthritis and Cartilage*, 2007, 15(5): 566-574.
- [10] Rhee DK, Marcelino J, Baker M, et al. The secreted glycoprotein lubricin protects cartilage surfaces and inhibits synovial cell overgrowth. *J Clin Invest*, 2005, 115(3): 622-631.
- [11] Hambly K, Bobic V, Wondrasch B, et al. Autologous chondrocyte implantation postoperative care and rehabilitation: science and practice. *Am J Sports Med*, 2006, 34(6): 1020-1038.
- [12] Steadman JR, Briggs KK, Rodrigo JJ, et al. Outcomes of microfracture for traumatic chondral defects of the knee: average 11-year follow-up. *Arthroscopy*, 2003, 19: 477-484.
- [13] Morrone G, Guzzardella GA, Torricelli P, et al. Osteochondral lesion repair of the knee in the rabbit after low-power diode Ga-Al-As laser biostimulation: an experimental study. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*, 2000, 28(4): 321-336.
- [14] Kamali F, Bayat M, Torkaman G, et al. The therapeutic effect of low-level laser on repair of osteochondral defects in rabbit knee. *J Photochem Photobiol B*, 2007, 88(1): 11-15.
- [15] Mihara M, Higo S, Uchiyama Y, et al. Different effects of high molecular weight sodium hyaluronate and NSAID on the progression of the cartilage degeneration in rabbit OA model. *Osteoarthritis Cartilage*, 2007, 15(5): 543-549.
- [16] Petrella RJ, DiSilvestro MD, Hildebrand C. Effects of hyaluronate sodium on pain and physical functioning in osteoarthritis of the knee: a randomized, double blind, placebo-controlled clinical trial. *Arch Intern Med*, 2002, 162(3): 292-298.
- [17] Salk RS, Chang TJ, D'Costa WF, et al. Sodium hyaluronate in the treatment of osteoarthritis of the ankle: a controlled, randomized, double-blind pilot study. *J Bone Joint Surg Am*, 2006, 88(2): 295-302.
- [18] Schmidt MB, Chen EH, Lynch SE. A review of the effects of insulin-like growth factor and platelet derived growth factor on in vivo cartilage healing and repair. *Osteoarthritis Cartilage*, 2006, 14(5): 403-412.
- [19] Lu L, Zhu X, Valenzuela RG, et al. Biodegradable polymer scaffolds for cartilage tissue engineering. *Clin Orthop Relat Res*, 2001, (391 Suppl): S251-S270.
- [20] Maracci M, Kon E, Zaffagnini S, et al. New cell-based technologies in bone and cartilage tissue engineering. II. *Cartilage Regeneration*, 2003, 88(1): 42-47.
- [21] Henderson I, Tuy B, Oakes B. Reoperation after autologous chondrocyte implantation. Indications and findings. *J Bone Joint Surg Br*, 2004, 86(2): 205-211.
- [22] Gillogly SD. Treatment of large full-thickness chondral defects of

the knee with autologous chondrocyte implantation. *Arthroscopy*, 2003, 19(Suppl 1):147-153.

[23] Grande DA, Breitbart AS, Mason J, et al. Cartilage tissue engineering: current limitations and solutions. *Clin Orthop Relat Res*, 1999, 367(Suppl):S176-S185.

[24] Boopalan PR, Sathishkumar S, Kumar S, et al. Rabbit articular cartilage defects treated by allogenic chondrocyte transplantation. *Int Orthop*, 2006, 30(5):357-361.

[25] Judas F, Rosa S, Teixeira L, et al. Chondrocyte viability in fresh and frozen large human osteochondral allografts: effect of cryoprotective agents. *Transplant Proc*, 2007, 39(8):2531-2534.

[26] Buckwalter JA. Cartilage researchers tell progress: technologies hold promise, but caution is urged. *J American Academy of Orthopaedic Surgeons Bulletin*, 1996, 44(2):24-26.

[27] Olofsson LB, Svensson O, Lorentzon R, et al. Periosteal transplantation to the rabbit patella. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2007, 15(5):560-563.

[28] Madsen BL, Noer HH, Carstensen JP, et al. Long-term results of periosteal transplantation in osteochondritis dissecans of the knee. *Orthopedics*, 2000, 23(3):223-226.

[29] Bouwmeester SJ, Beckers JM, Kuijjer 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.

[30] Slynarski K, Deszczynski J, Karpinski J. Fresh bone marrow and periosteum transplantation for cartilage defects of the knee. *Transplant Proc*, 2006, 38(1):318-319.

[31] Hangody L, Duska Z, Kárpáti Z. Autologous osteochondral mosaicplasty. *Techniques in Knee Surgery*, 2002, 1(1):1-10.

[32] Aubin PP, Cheah HK, Davis AM, et al. Long-term follow-up of fresh femoral osteochondral allograft for post-traumatic knee defects. *Clin Orthop Relat Res*, 2001, 391(Suppl):S318-S327.

[33] 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.

[34] Wakitani S, Aoki H, Harada Y, et al. Embryonic stem cells form articular cartilage, not teratomas, in osteochondral defects of rat joints. *Cell Transplantation*, 2004, 13(4):331-336.

(收稿日期:2009-03-27 本文编辑:连智华)

《中国骨伤》2010 年征订启事

《中国骨伤》杂志是中国中西医结合学会和中国中医科学院主办的国家级专业性学术期刊,是美国《医学索引》(IM/MEDLINE)等国内外著名数据库收录期刊,是中国期刊方阵双奖期刊。本刊办刊宗旨是坚持中西医并重原则,突出中西医结合特色,执行理论与实践、普及与提高相结合的方针。主要报道中医、西医和中西医结合在骨伤科领域的科研成果、理论探讨和临床诊疗经验,反映我国骨伤科在医疗、科研工作中的新进展,以促进国内外骨伤科的学术交流。

本刊主要设有专家述评、临床研究、基础研究、骨伤论坛、学术探讨、影像分析、诊治失误、经验交流、文献综述、手法介绍、继续教育园地、科研思路与方法、临床病例报告、国内外骨伤科医学动态以及医学书刊评价等栏目。

凡订阅本刊并参加继续教育园地试题答题者可获继续教育 I 类学分。

本刊为月刊,每月 25 日出版,期刊内页采用 80 g 亚光铜版纸,国际通用 16 开大版本,80 页,单价 15.00 元,全年价 180.00 元。国内外公开发行,全国各地邮局订阅,邮发代号:82-393。如错过征订机会,杂志社亦可代办补订(请直接汇款至杂志社),国内订户我们将负责免费邮寄。

地址:北京东直门内南小街甲 16 号《中国骨伤》杂志社,100700

电话:(010)84020925,64014411-2693 传真:(010)84036581

http://www.zggszz.com E-mail:zggszz@sina.com