

细胞-细胞之间的接触,用显性的 N-cadherin 突变体 (NCAD del $\Delta$ c) 短暂转染 SaOS-2 细胞可明显抑制其形态上的分化。以上表明 N-cadherin 对成骨细胞表型维持及成骨细胞分化调控起一定的作用。

**4.3 整合素与骨生成** 人们对整合素在骨发生的作用机制尚缺乏充足依据。Hughes 等<sup>[13]</sup> 用免疫组化方法对三种人骨:骨、肿瘤反应骨、新生肋软骨中整合素不同亚型定位作初步研究,结果表明三种类型骨中均表达  $\beta$ 1、 $\alpha$ 5 整合素,破骨细胞表达  $\alpha$ 2、 $\alpha$ V、 $\alpha$ V、 $\beta$ 3 整合素,从而推测 Integrin 介导了骨基质中成骨细胞与破骨细胞之间多种相互作用。Gronthos 进一步探讨了人的成骨细胞对不同的细胞外基质成份的黏附作用,发现成骨细胞可优先与纤维连接蛋白、I 型胶原、IV 型胶原黏附,并证明整合素在介导成骨细胞与胶原层粘连蛋白、纤维连接素的黏附担任重要角色,但整合素与成骨细胞生长、分化及对表型的调控仍要进一步研究及丰富。

参考文献

- 1 Kittredge R. Paraphrasing for condensation in journal abstracting. J Biomed Inform, 2002, 35(4): 265-277.
- 2 Keller R, Friedrich HJ. Cell rearrangement in morphogenesis. Zool. Sci, 1987, 4: 763-779.
- 3 Stott NS, Jiang TX, Chuong CM. Successive formative stages of precartilaginous mesenchymal condensations in vitro: Modulation of cell adhesion by Wnt 7A and BMP-2. J Cell Physiol, 1999, 180(3): 314-324.
- 4 Yajima H, Yoneitamura S, Watanabe N, et al. Role of N-cadherin in

- the sorting-out of mesenchymal cells and in the positional identity along the proximodistal axis of the chick limb bud. Dev Dyn, 1999, 216(3): 274-284.
- 5 Oberlender SA, Tuan RS. Spatiotemporal profile of N-cadherin expression in the developing limb mesenchyme. Cell Adhes Commun, 1994, 2(6): 521-537.
- 6 Tavelle S, Raffo P, Tacchetti C, et al. N-CAM and N-cadherin expression during in vitro chondrogenesis. Exp Cell Res, 1994, 215(2): 354-362.
- 7 Randall B, Widelitz, Ting Xin Jing. Adhesion Molecules in skeletogenesis. J Cellular Physiology, 1993, 156: 399-411.
- 8 Loeser RF. Chondrocyte integrin expression and function. Biorheology, 2000, 37(1-2): 109-116.
- 9 Shakibaei M, Merker HJ. Beta $\alpha$  integrins in the cartilage matrix. Cell Tissue Res, 1999, 296(3): 565-573.
- 10 Hirsch MS, Lunsford LE, Trinkaus Randall V, et al. Chondrocyte survival and differentiation in situ are integrin mediated. Dev Dyn, 1997, 210(3): 249-263.
- 11 Lee YS, Chuong CM. Adhesion molecules in skeletogenesis: I. Transient expression of neural cell adhesion molecules (NCAM) in osteoblasts during endochondral and intramembranous ossification. J Bone Miner Res, 1992, 7(12): 1435-1446.
- 12 Ferrari SL, Traianedes K, Thome M, et al. A role for N-cadherin in the development of the differentiated osteoblastic phenotype. J Bone Miner Res, 2000, 15(2): 198-208.
- 13 Hughes DE, Salter DM, Dedhar S, et al. Integrin expression in human bone. J Bone Miner Res, 1993, 8(5): 527-533.

(收稿日期: 2003-06-02 本文编辑: 连智华)

# 关节软骨缺损修复的实验与临床

## Experimental study and clinical application of the repair of articular cartilage defect

朱国华, 齐新生

ZHU Guohua, QI Xinsheng

关键词 关节软骨; 软骨缺损; 修复 **Key words** Articular cartilage; Cartilage defect; Repair

关节软骨的修复一直是骨科领域尚未完全解决的一大难题。现就关节软骨损伤后促进自身修复、组织或细胞移植修复、组织工程修复等方面对关节软骨修复方法作一综述。

### 1 促进关节软骨自身修复

关节软骨损伤或缺损能否自行修复, 多数人认为, 成熟关节软骨修复能力极为有限, 其修复主要靠邻近组织, 尤其是软骨下骨的化生, 它是来自软骨下骨组织的肉芽组织化生为纤维软骨, 然后成熟不到完善的透明软骨形态, 关节软骨虽具有自行愈合的能力, 但愈合能力十分有限。于是人们想借助于外界刺激来促进软骨缺损的愈合。

Gill<sup>[1]</sup> 提倡用微骨折及外科扩创技术来治疗软骨损伤, 他是通过钻孔以造成局部软骨以及软骨下骨小梁的微骨折而非

骨的破坏来诱导骨愈合反应, 同时通过外科扩创术局部形成血凝块为软骨再生提供良好的生长环境, 以上方法旨在从骨髓中获得多潜能的骨髓干细胞以及生长因子以促进软骨细胞的分化和软骨缺损的修复。但这些方法是否确实有效尚有争议。目前临床上钻孔术多用于局限性的关节软骨损伤, 如髌骨软化症、跖趾退行性关节炎等。

Katsumi 等<sup>[2]</sup> 的研究证实透明质酸不仅有润滑作用, 还有其直接的生物化学作用。Fortier 等<sup>[3]</sup> 研究了胰岛素生长因子-1(IGF-1) 在软骨急性损伤中的基因表达, 认为它能参与软骨生长的调节, 但其浓度与软骨基质的生长不呈正比, 而是不断波动的。Miura 等<sup>[4]</sup> 研究了高浓度的转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1) 对软骨缺损修复的基因治疗, 发现它能刺激骨膜移植软骨的再生, 促进新生软骨与软骨缺损区的融合, 提高软骨愈合的质量。为了使生长因子和其他生物活性剂能有效

地在局部发挥生物效能,一些学者利用载体植入方法,该方法可刺激软骨下骨的长入并提供软骨愈合面<sup>[5]</sup>。此外,人们还经大量的实验证实重组人骨形态发生蛋白-2、碱性成纤维细胞因子、AG041-R、胆囊收缩素 B、促胃液素受体拮抗剂、一氧化氮合酶抑制剂等均具有改善软骨再生状态、延缓软骨衰变作用<sup>[6,8]</sup>,而体内游离甲状旁腺素对软骨再生却有抑制作用<sup>[9]</sup>。至于类固醇类激素,现在公认它会影响软骨的正常生理功能而导致软骨萎缩。

众所周知,被动关节活动(continuous passive motion, CPM)及机械性负重对关节软骨修复也有一定的影响,它能增加滑液分泌,促进关节滑膜的血液循环,防止关节粘连,刺激骨膜生发层细胞的增生,为软骨生长提供良好的营养条件。

近年来人们也试图研究物理作用对关节软骨修复的影响,如低强度脉冲电流、超声、震荡力、激光等,但效果均不肯定。

目前在临床上,传统采用关节镜灌注术和关节清理术来治疗关节疾患,虽暂取得了一定的临床效果,但未能达到关节软骨的生理性修复,故远期效果不理想。

## 2 组织或细胞移植修复关节软骨缺损

由于软骨自身修复能力有限,于是人们希望通过有软骨形成能力的组织或细胞移植来修复关节软骨缺损。

最初尝试的为自体骨软骨移植,后来,人们又用异体骨软骨移植,它能在缺损中成活,但因异体软骨具有抗原性,会受到宿主免疫系统的攻击,异体移植呈现慢性免疫排斥反应,多数导致手术失败。为了降低免疫排斥反应,人们采用冲洗骨软骨块、放射线照射、混用受体骨髓或血浆浸渍、低温冷藏储存骨软骨等方法来保持软骨细胞的活性和降低其抗原性。近来,许多学者以新鲜的同种异体骨软骨移植进行实验研究及临床治疗,如 Ghazavi 等<sup>[10]</sup>应用同种异体骨软骨移植治疗膝关节创伤性骨软骨缺损 126 例,成功率达 85%。随着免疫学技术的发展,人们又想到了采用异体骨软骨移植,如 Toolan 等<sup>[11]</sup>成功地将新鲜的牛骨软骨经一系列化学处理及干燥冷冻后移植于兔关节软骨缺损区,结果显示关节软骨愈合良好。在关节软骨愈合过程中,虽产生了轻度的炎症反应,但不影响关节软骨的愈合过程。

因骨膜和软骨膜均来自未分化的中胚层细胞,二者均具有形成软骨的能力,于是人们想到采用骨膜和软骨膜移植修复关节软骨缺损。目前认为骨膜成软骨系其生发层未分化的间充质细胞在关节内特殊的营养、生物力学环境下分化的结果。初期人们以自体游离骨膜修复关节软骨缺损,发现术后能形成软骨样组织,当时人们对这一方法表现了浓厚的兴趣,且曾一度广泛使用,应用单纯的骨膜移植已有 10 余年的历史。1990-1994 年,周健生等<sup>[12]</sup>采用同种异体骨膜移植,他们用冷冻保存的胚胎颅骨骨膜移植修复髌关节软骨缺损,优良率达 74%,认为此法无附加损伤,具有移植材料、形态与股骨头相似等特点,是一种有效方法。但随着研究的深入,该方法的弊端也逐渐显露出来。最近, Madsen 等<sup>[13]</sup>报道了膝关节剥脱性骨软骨炎骨膜移植 18 例,发现该方法疼痛缓解率差,再手术率高,不宜采用。由于软骨膜内层为成软骨细胞,也有分化为软骨细胞的潜力。Amiel 等<sup>[14]</sup>以软骨膜修复关节

表面缺损,该方法曾用于临床修复关节面缺损及耳鼻软骨缺损,但由于修复组织不能较好耐受压力,且有远期退化,因而该方法未能得到广泛应用。后来,人们比较了骨膜与软骨膜移植的疗效时发现,游离骨膜移植较软骨膜移植软骨形成明显增多,且骨膜较软骨膜移植获取量大,能适应于不同的大小、形态和深度的缺损,取材方便,不需另作切口,并发症少,故人们应用骨膜移植较多。但随着近年生物组织工程的发展,单纯的骨膜或软骨膜移植均趋于淘汰。

随着体外软骨细胞的培养成功,使得人们尝试直接用软骨细胞修复关节软骨缺损。当初人们将自体软骨细胞悬液注射到关节软骨缺损部位,发现缺损为滑膜或纤维组织修复,镜下仅见少量新生软骨细胞结节。后来人们认识到软骨细胞在缺损内大量丢失,不可能很好地修复缺损,实验中,他们将软骨细胞接种于关节软骨的缺损部位,外以自体膜状组织覆盖,以防止细胞丢失,其结果为缺损为软骨样组织修复。美国人最早将自体软骨细胞移植用于临床,它是首批得到美国 FDA 批准用于临床的骨科生物技术之一。近来,日本人 Nakaya 等<sup>[15]</sup>也将自体培育的软骨细胞移植用于临床治疗,且报道了应用自体扩增培育的骨髓间充质细胞移植修复软骨缺损,新生软骨在组织学、生物化学与生物力学特征上与透明软骨相似。骨髓间充质细胞属于软骨先质细胞,20 世纪末就有人利用软骨先质细胞移植修复关节软骨缺损<sup>[16]</sup>,软骨先质细胞通常指具有多潜能分化的间质细胞,骨髓、骨膜或软骨膜可提供多潜能间质细胞的来源,它能在不同的条件下既可生成骨,又能生成关节软骨,对累及软骨下骨的软骨缺损可考虑应用未分化软骨先质细胞移植。

细胞移植需要支架或载体,以往的载体有聚乳酸、聚羟基己酸、胶原及纤维蛋白等。近年来,杨贵勇等<sup>[17]</sup>将软骨细胞种植在筋膜层上,结果显示软骨细胞生长良好,说明筋膜也可作为载体,有效可行。

## 3 组织工程修复关节软骨缺损

组织工程是近年生物医学科学发展的新领域,它包含种子细胞、支架材料和生物活性因子三个要素,其中支架材料在组织工程研究中起着举足轻重的作用,能否研制出理想的生物材料,对制造器官成功与否具有重要影响。软骨组织工程是将高密度的软骨细胞接种在多孔支架材料上形成软骨组织,再将此软骨组织回植到软骨缺损部位,来达到修复缺损的目的,其中所用的生物支架材料主要有聚乳酸、聚羟基己酸等。近几年复合材料成为研究热点,即在人工合成材料表面复合生物高分子,如胶原蛋白,使其兼具生物和人工合成材料的优点,是有希望的发展方向,此外,琼脂糖凝胶、水凝胶、碳纤维、藻酸盐等也在实验研究中。构建与正常软骨生物学及机械特性相近的人造软骨和骨组织,是当前组织工程学的研究重点之一。组织工程的提出和建立至今仅 10 年左右的时间,但却得到了迅猛的发展。近年来, Lee 等<sup>[18]</sup>在实验中将自身软骨细胞接种于 II 型胶原纤维中进行体外培养,然后再种植于软骨缺损区,发现 88% 的缺损区为新生软骨所填充。Paige 等<sup>[19]</sup>尝试了一种可注射性生物材料,成功地在裸鼠身上产生了透明软骨。Perka 等<sup>[20]</sup>将鸡胚胎软骨细胞植入在胶原纤维中,体外培育后用于修复软骨缺损,发现缺损区为类透

明软骨所修复。Gao 等<sup>[21]</sup>应用可注射磷酸钙及浸泡透明质酸酶的海绵治疗兔骨软骨缺损获得了成功,该方法加速了新生软骨的生成和明显改善了关节软骨覆盖面的组织形态学。当前,人们正从事向软骨缺损的软骨细胞和其垂直结构的软骨下骨的特定靶细胞提供或定时提供不同的生长激素,以促进软骨修复的生物与技术的研究。

虽然在组织工程研究软骨方面取得了十分可喜的成绩,但仍存在许多需要解决的问题,如支架材料在体内吸收过快、生物相容性、机械性能尚不够理想,种子细胞的筛选、同种异体细胞的免疫学、产生软骨的性质、产生的软骨在中后期是否发生退化等,解决这些问题,需要多学科交叉与结合,最终经过临床应用检验,不断探索,相信在不久的将来,组织工程在关节软骨缺损修复方面将会更加完善,将会有更多的患者从中受益。

### 参考文献

- Gill TJ. The treatment of articular cartilage defects using microfracture and debridement. *Am J Knee Surg*, 2000, 13(1): 33-40.
- Katsumi A, Harada Y, Wada Y, et al. Effects of hyaluronan on periosteal grafts for large full thickness defects in rabbit articular cartilage. *J Orthop Sci*, 1999, 4(2): 127-134.
- Fortier LA, Balkman CE, Sandell LJ, et al. Insulin like growth factor I gene expression patterns during spontaneous repair of acute articular cartilage injury. *J Orthop Res*, 2001, 19(4): 720-728.
- Miura Y, Parvizi J, Fitzsimmons JS, et al. Brief exposure to high dose transforming growth factor beta 1 enhances periosteal chondrogenesis in vitro: A preliminary report. *J Bone Joint Surg (Am)*, 2002, 84(5): 793-799.
- Kawamura S, Wakitani S, Kimura T, et al. Articular cartilage repair. Rabbit experiments with a collagen gel biomatrix and chondrocytes cultured in it. *Acta Orthop Scandinavica*, 1998, 69: 56.
- Sellers RS, Zhang R, Glasson SS, et al. Repair of articular cartilage defects one year after treatment with recombinant human bone morphogenetic protein 2 (rhBMP 2). *J Bone Joint Surg (Am)*, 2000, 82(2): 151-160.
- Nakanishi T, Kawasaki K, Uchio Y, et al. AG-041R, a cholecystokinin B/gastrin receptor antagonist, stimulates the repair of osteochondral defect in rabbit model. *Eur J Pharmacol*, 2002, 439(1-3): 135-140.
- 孙炜, 王吉兴, 金大地, 等. 一氧化氮酶抑制剂长期作用对兔关节

软骨缺损修复的影响. *中华医学杂志*, 2002, 82(1): 23-26.

- Kudo S, Mizuta H, Otsuka Y, et al. Inhibition of chondrogenesis by parathyroid hormone in vivo during repair of full thickness defects of articular cartilage. *J Bone Miner Res*, 2000, 15(2): 253-260.
- Ghazavi MT, Pritsker KP, Davis AF, et al. Fresh osteochondral allografts for post traumatic osteochondral defects of the knee. *J Bone Joint Surg (Br)*, 1997, 79(6): 1008.
- Toolan BC, Frenkel SR, Pereira DS, et al. Development of a novel osteochondral graft for cartilage repair. *J Biomed Mater Res*, 1998, 41(2): 244-250.
- 周建生, 胡汝麒, 潘功平, 等. 胚胎颅骨骨膜移植修复髌关节软骨大面积缺损. *中国修复重建外科杂志*, 1998, 12(3): 176-179.
- 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.
- Amiel D, Coutts RD, Harivood FL, et al. The chondrogenesis of rib perichondrial grafts for repair of full thickness articular cartilage defects in a rabbits model: A one year postoperative assessment. *Connect Tissue Res*, 1988, 18(1): 27.
- Nakaya H, Wakitani S. Cell transplantation therapy for the treatment of articular cartilage defect [In Process Citation]. *Nippon Rinsho*, 2002, 60(12): 2304-2309.
- Johnstone B, Yoo JU. Autologous mesenchymal progenitor cells in articular cartilage repair. *Clin Orthop*, 1999, 367: 156-162.
- 杨贵勇, 卢世壁, 张伯勋, 等. 筋膜软骨细胞修复关节软骨大面积缺损的实验研究. *中国修复重建外科杂志*, 2002, 16(4): 223-227.
- Lee CR, Grodzinsky AJ, Hsu HP, et al. Effects of a cultured autologous chondrocyte seeded type II collagen scaffold on the healing of a chondral defect in a canine model [In Process Citation]. *J Orthop Res*, 2003, 21(2): 272-281.
- Paige KT, Cima LG, Yaremchuk MJ, et al. Injectable cartilage. *Plast Reconstr Surg*, 1995, 96(6): 1390.
- Perka C, Schultz O, Lindenhayn K, et al. Joint cartilage repair with transplantation of embryonic chondrocytes embedded in collagen fibrin matrices. *Clin Exp Rheumatol*, 2000, 18(1): 13-22.
- Gao J, Dennis JE, Solchaga LA, et al. Repair of osteochondral defect with tissue engineered two phase composite material of injectable calcium phosphate and hyaluronan sponge [In Process Citation]. *Tissue Eng*, 2002, 8(5): 827-837.

(收稿日期: 2003-08-13 本文编辑: 连智华)

## • 新闻关注 •

### 非免疫细胞也产生免疫球蛋白

北京大学、中国医科院等院校的研究人员以大量的试验数据证明,肿瘤细胞等非免疫细胞也能产生一定量的免疫球蛋白分子。专家指出,这些近日发表在国际权威杂志《Cancer Research》的研究成果,向传统免疫学“经典”提出挑战,将重新定义 Ig 分子的来源,并阐明 Ig 在生理及病理条件下所具有的迄今未知的重要作用,具有重要的学术价值。

北京大学、中国医科院、浙江大学、中南大学等院校的几个研究小组通过大量的实验,证明除 B 淋巴细胞及浆细胞外,一些非免疫细胞,如肺癌、卵巢癌、肠癌等癌细胞及部分正常的上皮细胞内 Ig 基因,同样存在功能性基因重排,并产生一定量的免疫球蛋白分子;若在基因及蛋白水平抑制癌细胞表达 Ig 分子或封闭其活性,则癌细胞的增殖能力明显减弱,癌细胞凋亡数目明显增加;将 IgG 的抗体注入动物肿瘤体内,可明显抑制癌细胞的生长并诱导其凋亡。

原载《健康报》2004 年 4 月 13 日