

不同种类组织工程化细胞移植修复关节软骨的损伤★

赵智君¹, 李世和²

Repair of articular cartilage injury using tissue-engineered cell transplantation

Zhao Zhi-jun¹, Li Shi-he²

¹First Clinical College of Kunming Medical College, Kunming 650031, Yunnan Province, China;
²Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Zhao Zhi-jun★, Studying for master's degree, First Clinical College of Kunming Medical College, Kunming 650031, Yunnan Province, China
zzjdq@163.com

Correspondence to: Li Shi-he, Professor, Doctoral supervisor, Department of Orthopedics, First Affiliated Hospital of Kunming Medical College, Kunming 650032, Yunnan Province, China
zzjdq@163.com

Received: 2009-08-04
Accepted: 2009-10-30

¹昆明医学院第一附属医院, 云南省昆明市 650031; ²昆明医学院第一附属医院骨科, 云南省昆明市 650032

赵智君★, 男, 1981年生, 重庆市人, 汉族, 昆明医学院第一附属医院在读硕士, 主要从事骨与关节临床及组织工程修复关节软骨损伤方面的研究。
zzjdq@163.com

通讯作者: 李世和, 教授, 博士生导师, 昆明医学院第一附属医院骨科, 云南省昆明市 650032

中图分类号: R318
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225 (2010)11-02010-04

收稿日期: 2009-08-04
修回日期: 2009-10-30
(20090804005/WJY-Z)

Abstract

BACKGROUND: Simple medication therapy can not promote the healing of articular cartilage defects effectively; the insufficient sources of autogenous cartilage also limited cartilage transplantation.

OBJECTIVE: The types of articular cartilage injury and local micro-environment changes were analyzed to summarize the progress of tissue engineered seed cell transplantation and cell transplantation therapy for repairing articular cartilage injury.

METHODS: The databases of PubMed database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez/>) and CNKI (<http://www.cnki.net/>) were retrieved with the key words of "Tissue engineering, cell transplantation, articular cartilage defects", and the literature was limited to English and Chinese languages. Studies concerning articular cartilage injury or was closely related to tissue engineered seed cells transplantation were included. Repetitive studies were excluded. Survival and migration of seed cells, as well as the recovery of joint function and adverse reactions were served as evaluation index.

RESULTS AND CONCLUSION: A total of 201 literatures were seized by computers, according to the inclusion criteria, papers concerning tissue engineering cells for repairing articular cartilage injury were analyzed. Clinically, articular cartilage damage was commonly resulted by traumatic arthritis, which is difficult to repair due to the poor self-repair capacity of articular cartilage. The emergence of tissue engineered cell transplantation brought new hope for articular cartilage injury healing. Cell transplantation has obtained good effects in articular cartilage repair, but the technology is still room for improvement. How to technically improve the tissue-engineered 3 elements, namely, cells, scaffold materials, and biological activity factors were the research focuses. Autologous cartilage regeneration was the theoretical support for articular cartilage defects repairing, which needs to optimize its regeneration and to maintain a more stable chondrocyte phenotype in further research. The tissue-engineered cells had received good effects in repairing articular cartilage injury, and it is expected to be a new clinical treatment for articular cartilage injury with the in-depth study of tissue engineering.

Zhao ZJ, Li SH. Repair of articular cartilage injury using tissue-engineered cell transplantation. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(11):2010-2013. [<http://www.crter.cn> <http://en.zglckf.com>]

摘要

背景: 单纯药物治疗不能有效促进关节软骨缺损的愈合; 自体软骨来源有限, 软骨移植手术也相应受到限制。

目的: 分析关节软骨损伤类型及局部微环境的改变, 总结近年来国内外组织工程种子细胞移植研究相关进展以及细胞移植修复关节软骨损伤治疗进展。

方法: 以 Tissue engineering, cell transplantation, articular cartilage defects 为检索词, 检索 Pubmed 数据库 (1993-01/2008-12); 以组织工程, 细胞移植, 关节软骨损伤为检索词, 检索 CNKI 数据库 (2000-01/2008-12)。文献检索语种限制为英文和中文。纳入与关节软骨损伤以及分类密切相关性研究, 组织工程种子细胞移植技术相关性应用研究。排除重复性研究。以种子细胞的存活和迁移, 以及移植后关节功能的恢复和不良反应为评价指标。

结果与结论: 计算机初检得到 201 篇文献, 根据纳入排除标准, 对组织工程细胞移植修复关节软骨损伤的研究进行分析。临床上, 创伤性或骨关节炎造成的关节软骨损伤较为常见, 关节软骨自身修复能力差, 一旦损伤将很难修复。组织工程细胞移植技术的出现为成功治愈关节软骨损伤带来了新的希望。在动物模型和临床研究中, 细胞移植治疗关节软骨损伤已经取得良好的修复效果, 但这一技术仍有改进的余地。目前的研究集中在如何从技术上改善组织工程 3 要素, 即细胞, 生物支架材料和生物活性因子。自体软骨再生仍然是关节软骨缺损修复的理论支柱, 但进一步的研究需要优化其再生效果以及维持更加稳定的软骨细胞表型等等。组织工程细胞移植修复关节软骨损伤疗效较好, 随着目前组织工程研究的深入, 细胞移植修复技术有望成为临床上治疗关节软骨损伤的新方法。

关键词: 细胞移植; 软骨组织工程; 关节软骨损伤; 修复; 综述文献

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.11.028

赵智君, 李世和. 不同种类组织工程化细胞移植修复关节软骨的损伤[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(11):2010-2013. [<http://www.crter.org> <http://cn.zglckf.com>]

0 背景

关节软骨损伤愈合不良, 常常导致灾难性退化关节炎。临床经验表明, 单纯药物治疗不能有效促进关节软骨缺损的愈合, 因而需要自

体软骨移植手术。但是, 由于自体软骨来源有限, 软骨移植手术也相应受到限制。组织工程学和分子生物学的发展给关节软骨损伤的修复带来了希望。自体或异体软骨细胞移植术就是根据组织工程原理, 以软骨细胞培养, 移植形成软骨组织, 从而达到修复关节软骨损伤的目的。

1 目的

分析关节软骨损伤类型及局部微环境的改变, 总结近年来国内外组织工程种子细胞移植研究相关进展以及细胞移植修复关节软骨损伤治疗进展。

2 资料和方法

纳入与排除标准:

设计类型: 随机对照动物实验, 患者自身前后对照的临床研究。

研究对象: 实验动物主要包括胎羊模型、新西兰大白兔, SD 大鼠等。

干预类型: 纳入与关节软骨损伤以及分类密切相关性研究, 组织工程种子细胞移植技术相关性应用研究。排除重复性研究。

结局测量指标: ①移植入关节软骨缺损的种子细胞的存活和迁移。②关节软骨损伤细胞移植修复以及关节功能的恢复。③种子细胞体外培养中的异种蛋白、体内移植后免疫排斥反应、移植细胞死亡等不良反应。

检索策略: 以 Tissue engineering, cell transplantation, articular cartilage defects 为检索词, 检索 Pubmed 数据库(1993-01/2008-12); 以组织工程、细胞移植、关节软骨损伤为检索词, 检索 CNKI 数据库(2000-01/2008-12)。文献检索语种限制为英文和中文。

资料提取与文献质量评价: 由两名评价员分别仔细阅读所获文献文题、摘要和全文, 以确定符合纳入标准的文献, 并交叉核对, 如有分歧, 则通过讨论或由第二作者协助解决。

3 结果

3.1 文献检索结果及质量评价 计算机初检得到 201 篇文献, 中文 123 篇, 英文 78 篇。阅读标题和摘要进行初筛, 排除因研究目的与此文无关的 159 篇, 内容重复性的研究 12 篇, Meta 分析 16 篇, 共保留 30 篇文献进行综述。

3.2 文献证据综合提炼

部分层关节软骨损伤: 通过观察骨关节炎的初期阶段, 关节软骨的部分层损伤在成体不会自发愈合^[1]。因为损伤没有穿透软骨下骨, 骨髓腔中的干细胞没有机会到达软骨缺损处, 无法形成修复。1998 年, Namba 等^[2]通过胎羊模型证实关节软骨部分层缺损后存在一种有限的“自发修复”, 到底是修复性软骨组织, 还是生长填充性组织, 到现在仍然存在争论。在成体组织中, 关节软骨损伤后, 周边组织会立刻产生创伤性炎症反应, 从而产

生一种有限自发修复反应, 同时还证实, 关节软骨损伤后, 将会导致损伤周围细胞死亡, 24 h 以后, 又开始出现软骨细胞增殖、聚集, 以及细胞外基质合成代谢增强, 有学者证实这种反应持续时间短, 不能完全修复创面。Hunziker^[3]观察到, 来自滑膜的细胞可以被诱导迁移, 经过关节表面到达缺损处, 并在生长因子的影响下填充创面形成修复组织。1996 年, Hunziker 等^[4]发现, 在缺乏纤维蛋白基质和促有丝分裂因子的条件下, 这些滑膜细胞很难修复创面, 主要是因为蛋白聚糖的排斥特性, 特别是微小的, 富含亮氨酸的蛋白聚糖。比如二聚糖, 核心蛋白多糖, 纤调蛋白聚糖。所以, 非全厚层关节软骨损伤不能自发修复, 主要是因为骨髓基质干细胞不能到达创面, 完成组织修复。

全厚层关节软骨损伤: 关节软骨全厚层损伤, 穿透了钙化软骨带和软骨下骨, 因此寄居在骨髓腔里的干细胞(主要是骨髓基质干细胞)有机会到达创面, 生长并修复缺损。有研究证实, 这种被诱导的反应性修复是一种纤维软骨性修复^[5]。1993 年, Shapiro 等^[6]在兔的关节软骨全厚层损伤模型中指出, 其修复组织是一种类似于透明软骨样组织。他们同时还证实, 这种修复组织远远不及正常的透明软骨, 随着时间的推移, 很容易发生退行性变, 继而引起正常关节软骨退变。Shapiro 等^[6]还观察到, 紧邻创面边缘的组织开始坏死, 软骨细胞集落却几乎没有形成, 而且坏死后的死腔既没有软骨细胞迁移, 也没有来自软骨损伤处的骨髓基质干细胞来修复填充。通过光镜观察, 修复组织与周围正常软骨组织没有完全连接融合。虽然结果显示全厚层关节软骨损伤的自发修复效果不完美, 但临床上许多手术治疗技术还是基于此原理, 以达到临时修复效果^[7]。

组织工程种子细胞移植:

同种异体软骨细胞移植: 1968 年 Chesterman 和 Smith 第一次报道同种异体软骨细胞移植治疗关节软骨损伤以来, 许多学者相继用不同的种子细胞移植来修复损伤创面。然而, 最初同种异体软骨细胞移植成功率不到 40%, 因为在软骨损伤局部环境里, 软骨细胞很难成活。为了提高同种异体软骨细胞移植成功率, Wakitani 等^[8]选择胶原为载体, 4 周龄兔的关节软骨用胶原酶消化, 获得独立的软骨细胞。经过体外扩增, 与胶原凝胶载体复合。细胞-凝胶复合物最后被移植到兔髌骨关节软骨全厚层损伤模型, 直达软骨下骨, 移植 24 周后观察发现, 组织学检查证实移植细胞仍然表达透明软骨细胞分化特征。通过放射显影技术, 证实缺损修复组织中的软骨细胞来自原先移植的同种异体软骨细胞。这种技术使得同种异体软骨细胞移植成功率提高到 80%, 远远高于前者。成功率的提高有两个原因: 第一, 由于在关节创面有胶原凝胶的固定, 软骨细胞不会发生位移。第二, 胶原凝胶予以移植细胞适合生长的环境, 使得其保

持活性并分泌细胞外基质。

自体软骨细胞移植 :1989 年 Grande 等通过动物实验模型证实了自体软骨细胞移植修复关节软骨损伤的有效性。1994 年, 临床试验自体软骨细胞移植修复关节软骨损伤, 疗效也得到确认^[9]。1997 年, 自体软骨细胞移植得到美国 FDA 正式批准, 自此流行世界, 目前已有超过 20 000 人受益。通过临床证实, 对于大部分关节软骨损伤患者, 自体软骨细胞移植治疗不仅可以减轻疼痛, 而且还可以改善患肢功能。但一些学者提出, 不能单凭是否改善了临床症状来证实其治疗疗效。因为, 判断治疗疗效客观标准不单纯是临床症状是否得到缓解, 而是需要随机对照实验。

然而, 在临床手术当中随机对照很难实现。自 2000 年以来, 有相关学者报道了关于自体软骨细胞移植和自体软骨移植的随机对照实验, 但是并没有证实哪种治疗效果最优^[10-13]。2004 年, Knutsen 等^[14]证实临床上软骨细胞移植和微骨折成形术疗效并没有显著统计学差异, 并且术后两年愈合率和组织学检查之间没有相关性。微骨折成形术相对简单, 便宜。软骨细胞移植术, 每个患者平均治疗费用大约\$10 000。因此, 如果一旦不能证实自体软骨细胞移植术更加有效, 那么其临床运用前景令人担忧, 因为关节软骨损伤细胞移植治疗后的临床症状和 X 射线在 10 年内很难明显改善。

第一代自体软骨细胞移植技术主要是单纯软骨细胞移植于关节软骨损伤创面, 没有复合载体支架。第二代自体软骨细胞移植技术, 主要在上二代基础上, 复合支架载体, 比如胶原蛋白等等, 其疗效较第一代有所改善^[15-16]。自体关节软骨细胞移植技术是修复关节软骨损伤最为理想的方法^[17]。但是, 软骨细胞的来源一直都是难以解决的问题之一。在自体软骨细胞移植患者中, 正常关节软骨组织总量有限, 因此很难获得大量软骨细胞。所以, 尤其需要在体外大规模扩增自体软骨细胞, 而又不能丢失透明软骨细胞表型。在单层培养时, 细胞容易生长, 增殖, 却很容易失去透明软骨细胞表型特征。在三维培养时, 如在胶原凝胶培养环境中, 细胞很少发生去分化, 但是增殖却相对缓慢。而加入生长因子, 可以很好的解决这个问题。

间充质干细胞移植: 间充质干细胞具有潜在的成软骨特性, Lee 等^[18]通过研究成软骨性间充质干细胞诱导形成的关节软骨组织的生化, 组织学以及力学特性, 表明以成软骨性基质干细胞为种子细胞, 复合可生物降解的多孔聚合支架材料, 移植修复关节软骨损伤是一种全新的方法, 和自体软骨细胞移植相比, 其修复组织的力学和生化特性没有明显差异。间充质干细胞具有多向分化潜能, 可以诱导分化为其他结缔组织细胞, 比如: 骨, 软骨, 肌肉以及肌腱组织细胞^[19]。有研究表明, 人骨髓基质干细胞在体内可以通过诱导分化形成其他间质细

胞, 比如: 脂肪细胞, 软骨细胞, 成骨细胞。骨髓基质干细胞可以从髓腔获得, 分离, 体外扩增, 予以合适的培养条件, 它们就可以表达分化的特性^[20-21]。

Hui 等^[22]针对治疗关节软骨损伤的几种常用方法, 即骨髓基质干细胞移植, 软骨细胞移植, 骨膜移植以及软骨镶嵌术, 研究其对比性。在兔膝关节股骨内髌负重关节面全厚层软骨缺损模型中, 56 个膝关节模型被随机分成 4 组: 软骨细胞移植组, 骨髓基质干细胞移植组, 骨膜移植组, 软骨镶嵌术组。研究显示软骨细胞移植和骨髓基质干细胞移植修复关节软骨面损伤没有明显差异。软骨移植在初期疗效较好, 骨膜移植相对较差。而 Goldberg 和 Caplan^[23]研究对比了软骨细胞移植和骨髓基质干细胞移植修复兔膝关节全厚层关节软骨缺损, 他们观察了软骨细胞的生长和关节创面的修复情况, 得出结论证实, 骨髓基质干细胞修复关节面缺损的新生组织更类似于透明软骨组织。

其他干细胞移植: 如今全世界范围内都在研究寻找新的干细胞, 以形成透明软骨组织来修复关节软骨损伤。骨软骨干细胞和基质干细胞存在于多种组织中, 如: 滑膜组织, 肌肉组织, 脂肪组织, 并且容易获得。有研究显示, 滑膜组织干细胞被认为最容易分化为透明软骨细胞, 因此最有可能运用于临床^[24]。脂肪组织来源的间充质干细胞也有较好的运用前景, 而且现在随着全世界肥胖人口的增加, 很容易获取大量的脂肪干细胞^[25]。

有相关报道证实, 在大鼠关节软骨损伤模型中, 在体外通过骨形态发生蛋白 2 诱导肌肉组织干细胞产生类软骨组织, 成功修复了关节软骨缺损^[26]。这为组织工程技术修复关节软骨损伤提供了一种新技术。胚胎干细胞也是修复各种组织损伤中最有前景的种子细胞之一。当然也可以用来修复骨软骨缺损, 但是要想诱导这些细胞分化形成单一的透明软骨细胞却很困难。有研究显示, 当在正常关节腔植入胚胎干细胞以后, 却形成了畸胎瘤, 并随后破坏了关节软骨^[27]。然而, 更有研究表明, 当胚胎干细胞植入骨软骨损伤模型时, 它们却分化形成软骨组织并且加快了修复过程。这种现象的机制现在还不清楚^[28]。

4 结论

临床上运用自体软骨细胞移植修复关节软骨损伤, 其疗效并不是完全令人满意。首先, 很难找到一种完美的客观标准来评估关节软骨损伤治疗愈合后。其次, 部分患者术后疼痛仍然存在。治疗目的是术后较长时间缓解疼痛, 恢复生理功能, 所以单凭临床症状改善有无来断定其疗效, 是不客观的。而评判标准之一是磁共振成像技术^[29]。优点是可以初步评判不同组织损伤缺损治疗后的修复程度, 缺点是修复组织的成分难以确定, 以后进

一步的研究将集中在如何通过磁共振成像技术鉴定修复组织成份。目前, 鉴定修复组织成份最为有效的方法是关节镜下取活检技术。它是一项有创操作技术, 很难大规模运用。

细胞培养时, 通常在培养基中加入胎牛血清, 因此异种蛋白的问题不能逃避。2001年, 随着牛海绵状脑病在世界范围内蔓延, 胎牛血清的使用受到很大限制。对于移植用人软骨细胞培养, 有学者建议使用人自体血清。此后, 问题接踵而来。有学者研究报道, 人胚胎干细胞在动物血清培养环境中将会表达一种动物大分子物质(silica acid Neu5Gc), 从而产生相应抗体, 导致这些细胞死亡^[30]。相关研究表明, 当人细胞在培养过程中接触动物源性物质时, 很有可能表达动物大分子物质。细胞培养用胎牛血清和支架胶原载体都很有可能产生这种现象。

总之, 组织工程细胞移植技术的出现为成功治愈关节软骨损伤带来了新的希望。在动物模型和临床研究中, 细胞移植治疗关节软骨损伤已经取得良好的修复效果, 但这一技术仍有改进的余地。自体 and 异体软骨细胞仍然还是种子细胞的主要来源, 在未来的组织工程研究中还需要探讨新的种子细胞来源, 优化种植细胞移植。

5 参考文献

- [1] Beris AE, Lykissas MG, Papageorgiou CD, et al. Advances in articular cartilage repair. *Injury*. 2005;36 Suppl 4:S14-23.
- [2] Namba RS, Meuli M, Sullivan KM, et al. Spontaneous repair of superficial defects in articular cartilage in a fetal lamb model. *J Bone Joint Surg Am*. 1998;80(1):4-10.
- [3] Hunziker EB. Growth-factor-induced healing of partial-thickness defects in adult articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*. 2001; 9(1):22-32.
- [4] Hunziker EB, Rosenberg LC. Repair of partial-thickness defects in articular cartilage: cell recruitment from the synovial membrane. *J Bone Joint Surg Am*. 1996;78(5):721-733.
- [5] Gobbi A, Kon E, Berruto M, et al. Patellofemoral full-thickness chondral defects treated with Hyalograft-C: a clinical, arthroscopic, and histologic review. *Am J Sports Med*. 2006;34(11):1763-1773.
- [6] Shapiro F, Koide S, Glimcher MJ. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am*. 1993;75(4):532-553.
- [7] Kono M, Takao M, Naito K, et al. Retrograde drilling for osteochondral lesions of the talar dome. *Am J Sports Med*. 2006; 34(9):1450-1456.
- [8] Wakitani S, Kimura T, Hirooka A, et al. Repair of rabbit articular surfaces with allograft chondrocytes embedded in collagen gel. *J Bone Joint Surg Br*. 1989;71(1):74-80.
- [9] Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, et al. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med*. 1994;331(14):889-895.
- [10] Horas U, Pelinkovic D, Herr G, et al. Autologous chondrocyte implantation and osteochondral cylinder transplantation in cartilage repair of the knee joint. A prospective, comparative trial. *J Bone Joint Surg Am*. 2003;85-A(2):185-192.
- [11] Smith GD, Richardson JB, Brittberg M, et al. Autologous chondrocyte implantation and osteochondral cylinder transplantation in cartilage repair of the knee joint. *J Bone Joint Surg Am*. 2003;85-A(12):2487-2488.
- [12] Bentley G, Biant LC, Carrington RW, et al. A prospective, randomised comparison of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for osteochondral defects in the knee. *J Bone Joint Surg Br*. 2003;85(2):223-230.
- [13] Kish G, Hangody L. A prospective, randomised comparison of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for osteochondral defects in the knee. *J Bone Joint Surg Br*. 2004; 86(4):619.
- [14] Knutsen G, Engebretsen L, Ludvigsen TC, et al. Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee. A randomized trial. *J Bone Joint Surg Am*. 2004;86-A(3):455-464.
- [15] Jones DG, Peterson L. Autologous chondrocyte implantation. *J Bone Joint Surg Am*. 2006;88(11):2502-2520.
- [16] Bachmann G, Basad E, Lommel D, et al. MRI in the follow-up of matrix-supported autologous chondrocyte transplantation (MACI) and microfracture. *Radiologie*. 2004;44(8):773-782.
- [17] Schaefer D, Martin I, Jundt G, et al. Tissue-engineered composites for the repair of large osteochondral defects. *Arthritis Rheum*. 2002;46(9):2524-2534.
- [18] Lee JW, Kim YH, Kim SH, et al. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells and its clinical applications. *Yonsei Med J*. 2004;45 Suppl:41-47.
- [19] Roufosse CA, Direkze NC, Otto WR, et al. Circulating mesenchymal stem cells. *Int J Biochem Cell Biol*. 2004;36(4): 585-597.
- [20] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 1999; 284(5411): 143-147.
- [21] Reyes M, Lund T, Lenvik T, et al. Purification and ex vivo expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitor cells. *Blood*. 2001;98(9):2615-2625.
- [22] Hui JH, Chen F, Thambyah A, et al. Treatment of chondral lesions in advanced osteochondritis dissecans: a comparative study of the efficacy of chondrocytes, mesenchymal stem cells, periosteal graft, and mosaicplasty (osteochondral autograft) in animal models. *J Pediatr Orthop*. 2004;24(4):427-433.
- [23] Goldberg VM, Caplan AL. Biologic restoration of articular surfaces. *Instr Course Lect*. 1999;48:623-627.
- [24] Sakaguchi Y, Sekiya I, Yagishita K, et al. Comparison of human stem cells derived from various mesenchymal tissues: superiority of synovium as a cell source. *Arthritis Rheum*. 2005;52(8):2521-2529.
- [25] Mochizuki T, Muneta T, Sakaguchi Y, et al. Higher chondrogenic potential of fibrous synovium- and adipose synovium-derived cells compared with subcutaneous fat-derived cells: distinguishing properties of mesenchymal stem cells in humans. *Arthritis Rheum*. 2006;54(3):843-853.
- [26] Nawata M, Wakitani S, Nakaya H, et al. Use of bone morphogenetic protein 2 and diffusion chambers to engineer cartilage tissue for the repair of defects in articular cartilage. *Arthritis Rheum*. 2005;52(1):155-163.
- [27] Wakitani S, Takaoka K, Hattori T, et al. Embryonic stem cells injected into the mouse knee joint form teratomas and subsequently destroy the joint. *Rheumatology (Oxford)*. 2003; 42(1):162-165.
- [28] Wakitani S, Aoki H, Harada Y, et al. Embryonic stem cells form articular cartilage, not teratomas, in osteochondral defects of rat joints. *Cell Transplant*. 2004;13(4):331-336.
- [29] Nissi MJ, Toyras J, Laasanen MS, et al. Proteoglycan and collagen sensitive MRI evaluation of normal and degenerated articular cartilage. *J Orthop Res*. 2004;22(3):557-564.
- [30] Martin MJ, Muotri A, Gage F, et al. Human embryonic stem cells express an immunogenic nonhuman sialic acid. *Nat Med*. 2005;11(2):228-232.

关于作者: 第一作者构思并设计本综述, 第一作者解析相关数据, 经 5 修改 5 次审校, 所有作者共同起草, 第一作者对本文负责。

利益冲突: 无利益冲突。

伦理批准: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

此问题的已知信息: 生物材料组织工程是目前研究最为广泛的组织工程方法, 其 3 大要素是细胞、生物材料支架及讯息因子。细胞是生物工程的核心, 种子细胞移植技术是组织工程中的重要环节。自体或异体软骨细胞, 骨髓基质干细胞, 以及其他干细胞等等, 是常用的种子细胞来源, 现已广泛用于动物实验及临床。

本综述增加的新信息: ①关节软骨的内在结构、损伤的分类以及损伤局部微环境的改变。②各种种子细胞移植的动物及临床实验分析, 进一步比较其优缺点。③提出评判细胞移植修复疗效的标准, 以及细胞培养过程中不可避免的异种蛋白问题等等。