

富血小板血浆及脐带间充质干细胞修复软骨损伤

徐静¹, 王黎明¹, 周立冬², 吴美², 崔辉², 赵璟², 曾独娟², 张仲文³, 刘爱兵²(¹安徽医科大学武警总医院临床学院, 安徽省合肥市 230032; ²武警总医院医学实验中心, 北京市 100071; ³武警总医院骨四科, 北京市 100039)

文章亮点:

1 富血小板血浆与干细胞单独应用的文献很多, 把两者联合的文献较少; 很多文献描述在体外用富血小板血浆诱导干细胞向成骨、透明软骨细胞转化。
2 实验将两者联合应用, 并直接在动物体内进行实验。结果表明富血小板血浆、人脐带间充质干细胞均能促进软骨损伤的修复, 而且富血小板血浆、富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞较单独应用人脐带间充质干细胞效果好。

关键词:

干细胞; 脐带脐血干细胞; 富血小板血浆; 人脐带间充质干细胞; 关节软骨; 软骨损伤; 骨关节炎

主题词:

富血小板血浆; 间质干细胞; 软骨细胞

摘要

背景: 研究者直接将富血小板血浆作为支架材料与骨髓基质干细胞、软骨细胞等复合后体外培养发现软骨细胞在富血小板血浆三维支架呈现增殖生长, 骨髓基质干细胞在增殖的同时有向软骨细胞分化的倾向。

目的: 观察富血小板血浆和人脐带间充质干细胞对受损软骨修复的影响。

方法: 正常健康新西兰大白兔 40 只, 制备兔软骨损伤模型。2 次离心法制备富血小板血浆, 制备 3 代人脐带间充质干细胞。随机将动物分为 4 组, 造模后生理盐水组关节腔一次性注入生理盐水 0.5 mL; 富血小板血浆组注入 12.5%富血小板血浆 0.5 mL; 人脐带间充质干细胞组注入 1×10^7 人脐带间充质干细胞 0.5 mL; 富血小板血浆(12.5%)联合人脐带间充质干细胞(1×10^7)组注入两种物质 0.5 mL。造模后第 12 周, 大体观察软骨损伤修复情况; 苏木精-伊红染色光镜下观察损伤部位细胞修复情况; 根据 O'Driscoll 组织学评分标准对造模后第 12 周切片进行组织学评分。

结果与结论: 软骨损伤后大体观察、苏木精-伊红染色组织学观察及组织学评分均显示富血小板血浆组、人脐带间充质干细胞组、富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞组对软骨损伤的修复效果优于生理盐水组, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 富血小板血浆组、富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞组的修复效果优于人脐带间充质干细胞组, 差异有显著性意义($P < 0.05$)。结果说明富血小板血浆、人脐带间充质干细胞均能促进软骨损伤的修复, 而且富血小板血浆、富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞较单独应用人脐带间充质干细胞效果好。

徐静, 王黎明, 周立冬, 吴美, 崔辉, 赵璟, 曾独娟, 张仲文, 刘爱兵. 富血小板血浆及脐带间充质干细胞修复软骨损伤[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(41): 6633-6638.

Platelet-rich plasma plus human umbilical cord mesenchymal stem cells for cartilage repair

Xu Jing¹, Wang Li-ming¹, Zhou Li-dong², Wu Mei², Cui Hui², Zhao Jing², Zeng Du-juan², Zhang Zhong-wen³, Liu Ai-bing² (¹Clinical Institute of Anhui Medical University, General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Hefei 230032, Anhui Province, China; ²Medical Experimental Center, General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Beijing 100071, China; ³Fourth Department of Orthopaedics, General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Beijing 100071, China)

Abstract

BACKGROUND: Chondrocytes co-cultured with bone marrow stromal stem cells on the scaffold of platelet-rich plasma are found to proliferate, and besides proliferative growth, bone marrow stromal cells exhibit a tendency of differentiating into chondrocytes.

OBJECTIVE: To study the effect of platelet-rich plasma and human umbilical cord mesenchymal stem cells (hUCMSCs) on cartilage repair.

METHODS: Forty healthy New Zealand white rabbits were selected to establish models of cartilage defects, and then randomly divided into normal saline group, platelet-rich plasma group, hUCMSCs group and combination group. Platelet-rich plasma was prepared by using double centrifugations to prepare passage 3 hUCMSCs. After modeling, intra-articular injection of normal saline (0.5 mL), 12.5% platelet-rich plasma (0.5 mL), 1×10^7 hUCMSCs (0.5 mL), 12.5% platelet-rich plasma+ 1×10^7 hUCMSCs (totally 0.5 mL) was done in corresponding groups, respectively. After 12 weeks of modeling, the injured cartilage was grossly observed, and hematoxylin-eosin

徐静, 女, 1987 年生, 山东省邹城市人, 汉族, 安徽医科大学在读硕士, 主要从事临床检验诊断学的研究。

通讯作者: 刘爱兵, 硕士, 主任医师, 硕士生导师, 武警总医院医学实验中心, 北京市 100071

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.

2014.41.013

[http://www.crter.org]

中图分类号:R394.2

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2014)41-06633-06

稿件接受:2014-09-05

Xu Jing, Studying for master's degree, Clinical Institute of Anhui Medical University, General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Hefei 230032, Anhui Province, China

Corresponding author: Liu Ai-bing, Master, Chief physician, Master's supervisor, Medical Experimental Center, General Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Beijing 100071, China

Accepted: 2014-09-05

staining was used to observe cartilage repair under light microscope; according to the O'Driscoll histologic standard, histological examination was performed.

RESULTS AND CONCLUSION: The repair effect in the normal saline group was significantly better than in the platelet-rich plasma group, hUCMSCs group, combination group ($P < 0.05$), while the platelet-rich plasma group and combination group also exhibit better outcomes than the hUCMSCs group ($P < 0.05$). These findings indicate that both platelet-rich plasma and hUCMSCs can promote cartilage repair; moreover, platelet-rich plasma with or without hUCMSCs is superior to hUCMSCs alone in the cartilage repair.

Subject headings: platelet-rich plasma; mesenchymal stem cells; chondrocytes

Xu J, Wang LM, Zhou LD, Wu M, Cui H, Zhao J, Zeng DJ, Zhang ZW, Liu AB. Platelet-rich plasma plus human umbilical cord mesenchymal stem cells for cartilage repair. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2014;18(41):6633-6638.

0 引言 Introduction

富血小板血浆最初被作为一种生物凝胶和屏障膜应用于临床, 主要作用为提高止血效果。自1984年Assoian发现富血小板血浆中含有多种生长因子后, 其应用领域不断扩大。1993年Hood等首先提出富血小板血浆概念, 富血小板血浆是通过离心的方法从自体血中提取出来的血小板浓缩物, 富血小板血浆中含有丰富的血小板, 其数目比全血中数目高3倍以上。1998年Marx等证实富血小板血浆对骨组织修复有促进成骨作用后, 许多学者围绕富血小板血浆在骨修复中的应用展开了大量的研究, 并取得了一定的成果^[1]。血小板中含有大量的生长因子, 如血小板衍生生长因子、转化生长因子 β 、类胰岛素生长因子、表皮生长因子、血管内皮生长因子等, 在促进骨样组织恢复中起重要作用^[2]。据报道血小板能促进血管的生成、胶原蛋白的合成和细胞增殖, 并对肌腱^[3]、韧带、骨骼肌、骨和软骨损伤有积极的修复作用^[4-6]。

富血小板血浆发挥作用是通过血小板释放其颗粒内容物到周围环境, 内容物中含大量的生长因子, 这些生长因子从来没有进入细胞或细胞核中, 他们没有致突变性, 而且他们能促进正常组织损伤后达到更快愈合。因此, 富血小板血浆不会诱导肿瘤等不良组织形成, 保证了其临床应用的安全性^[7]。近年来有研究者直接将富血小板血浆作为支架材料与骨髓基质干细胞、软骨细胞等复合后体外培养发现软骨细胞在富血小板血浆三维支架呈现增殖生长, 骨髓基质干细胞在增殖的同时有向软骨细胞分化的倾向^[8]。

干细胞的研究被认为开始于1960年, 在加拿大科学家恩尼斯特·莫科洛克和詹姆士·提尔的研究之后干细胞是一群具有高度自我更新和多向分化潜能的细胞, 理论上具有分化为人体所有组织器官类型细胞的能力, 因而是再生医学和组织工程的理想细胞来源^[9]。根据干细胞所处的发育阶段可将其分为胚胎干细胞和成体干细胞。根据干细胞的发育潜能分为3类: 全能干细胞、多能干细胞和单能干细胞。间充质干细胞是一类多能干细胞, 源于发育早期的中胚层和外胚层, 在体外特定的诱导条件下可分化为脂肪、软骨、骨、肌肉、肌腱、神经、肝、心肌、胰岛 β 细胞和内皮等多种组织细胞, 连续传代培养和冷冻保存后仍具有多向分化潜能。不论是自体还是同种异体的间充质干细胞, 一般都不会引起宿主的免疫反应。2006年, 中国在脐带组织中分

离出间充质干细胞, 这种组织来源的间充质干细胞具有分化潜力大、增殖能力强、免疫原性低、取材方便、无道德伦理问题的限制、易于工业化制备等特征, 有可能成为最具临床应用前景的多能干细胞, 目前已作为种子细胞治疗糖尿病^[10]、骨^[11]、软骨损伤疾病。

本研究通过动物实验初步探讨富血小板血浆和人脐带间充质干细胞在体内对受损软骨修复的作用, 为其临床应用提供实验依据。

1 材料和方法 Materials and methods

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 实验于2013年4月至2014年4月在武警总医院医学实验中心完成。

材料:

实验动物: 3月龄健康新西兰大白兔40只, 雌雄各半, 体质量1.8-2.2 kg, 平均2.0 kg, 此年龄段动物生命力及恢复力强。由军事医学科学院实验动物中心提供, 实验动物生产许可证SCXK(京)2011-0010。

富血小板血浆及脐带间充质干细胞对软骨损伤修复实验用主要试剂与仪器:

试剂与仪器	来源
UltraCULTURE细胞基础培养基、Ultrosor G血清替代物	美国HyClone
谷氨酰胺、胰蛋白酶	Gibco
EDTA-Na2	Biotech
苏木精、伊红	Solarbio
莱卡冰冻切片机	德国
CX21普通光学显微镜、倒置荧光显微镜(CK2-TRC-3)	Olympus
二氧化碳培养箱	中国上海

实验方法:

富血小板血浆的制备: 抽取兔耳背中央动脉血4 mL EDTA-K2抗凝, 采用二次离心法制备富血小板血浆。将装有4 mL兔血的离心管配平放入离心机中, 以2 000 r/min离心4 min, 吸取全部上清液及交界面下1.0-2.0 mm, 再次以1 550 r/min离心20 min, 此时血小板被浓集至离心管底部, 再去除管内上层的乏血小板血浆(PPP)大部分, 约占上清液上3/4, 剩余液体约0.5 mL, 即为富血小板血浆, 摇匀, 备用^[12-13]。

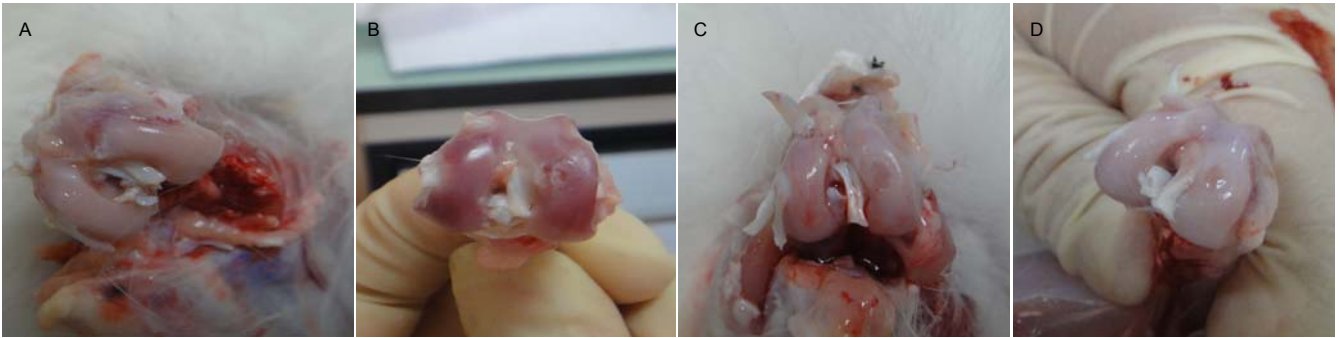


图2 兔膝关节软骨损伤修复12周大体形态观察

Figure 2 Gross observation of the injured cartilage of rabbit knee joint 12 weeks after repair

图注: 图A为生理盐水对照组, 软骨损伤区域明显, 未见或极少见新生组织覆盖, 软骨退变严重; B为人脐带间充质干细胞组, 膝关节软骨损伤区域较明显, 边缘有增生, 中央部不平整, 可见新生组织覆盖, 软骨退变严重; C为富血小板血浆组, 膝关节软骨损伤区域已不明显, 大部分由软骨样组织长入, 表面较光滑; D为富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞组, 膝关节软骨损伤区域不明显, 全部由软骨样组织覆盖, 表面光滑。

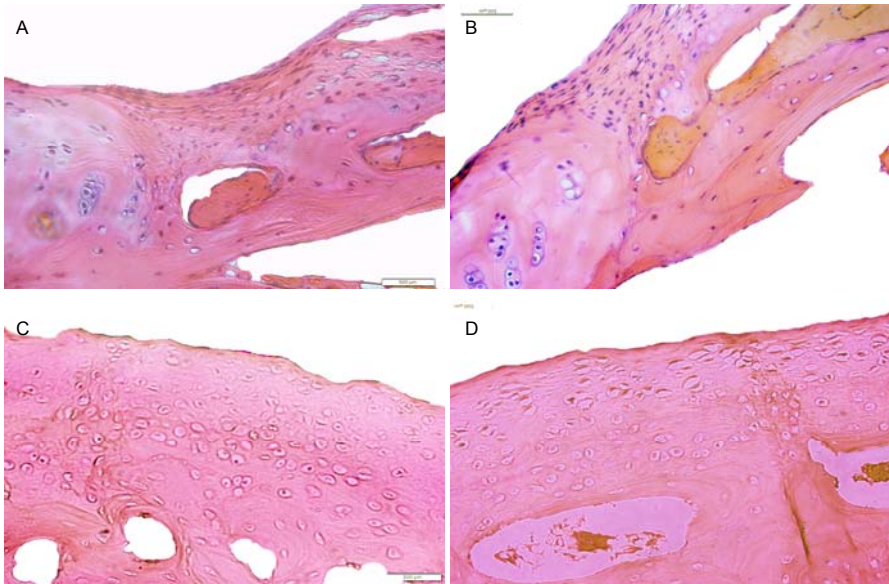


图3 兔膝关节软骨损伤后组织学观察结果(苏木精-伊红染色, ×400)

Figure 3 Histological observation of the injured cartilage of rabbit knee joint (hematoxylin-eosin staining, ×400)

图注: 图A为生理盐水对照组, 可见纤维组织填充, 表面平整度差; B为人脐带间充质干细胞组, 深部修复组织为透明样软骨, 浅部修复组织为纤维组织, 表面平整度较差; C为富血小板血浆组, 为透明样软骨, 与周围软骨及软骨下骨结合较好, 表面平整度较好; D为富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞组, 修复组织为透明样软骨, 与周围软骨及软骨下骨结合好, 表面平整度较好。



图1 兔子软骨损伤模型的建立

Figure 1 Establishing a rabbit model of cartilage defects

图注: 动物模型直径为5 mm, 全层膝关节软骨缺损。

全血和富血小板血浆的血小板计数: 草酸铵稀释液0.38 mL, 标本20 μL加入稀释液中, 混匀, 静置10 min, 混匀, 取少许滴入计数池, 室温静置10 min, 在显微镜下计数中央大方格中5个小中方格的血小板数, 按照公式血小板数=5小中方格血小板数×10⁹ L⁻¹, 血小板获得率=富血小板血浆中的血小板数/全血中的血小板数×100。

细胞提取及培养: 取本实验室冻存3代人脐带间充质干细胞复苏, 脐带间充质干细胞的鉴定参考文献[11]的方法进行。用含10 mL Ultrosor G/500 mL、10 mL血清替代物/500 mL、5 mL谷氨酰胺/500 mL的UltraCULTURE细胞培养基培养至80%–90%融合, 0.125%胰蛋白酶消化收集人脐带间充质干细胞, 调整细胞浓度为1×10¹⁰ L⁻¹。

表 1 组织学评分标准

Table 1 O'Driscoll histologic standard

组织学表现	评分
组织形态	
透明软骨	4
大部分为透明软骨	3
透明软骨纤维软骨混合	2
大部分为纤维软骨	1
纤维组织	0
基质染色	
正常或接近正常	3
中等	2
微弱	1
无	0
新生软骨厚度	
与周围正常软骨相似	2
低于正常软骨	1
无软骨	0
表面整齐程度	
表面光滑完整	3
表面不光滑(<25%)	2
表面缺损较大(25%~99%)	1
全部缺损	0
与周围软骨整合程度	
两端均整合良好	2
一端整合良好	1
两端整合差	0
结构完整性	
正常	2
轻微损坏	1
严重分裂	0
软骨细胞集群	
无软骨细胞集群	2
软骨细胞<25%	1
软骨细胞 25%~100%	0
细胞减少	
正常	3
轻度	2
中等	1
严重	0
相邻软骨退变	
正常细胞结构, 无集群, 正常染色	3
正常细胞结构, 中等细胞集群, 中等染色	2
中等细胞减少, 染色轻微	1
严重细胞减少, 染色差或无色	0
炎症	
无	2
轻微	1
严重	0
总分	26

兔子软骨损伤模型的建立: 无菌环境下将兔的右侧后腿膝关节内侧纵行全层切开, 全长2 cm, 直达关节腔, 用手摇钻在股骨髁间前侧钻一直径5 mm, 厚度达软骨全层的圆形孔洞, 造成全层膝关节软骨损伤动物模型(图1), 切口间断全层缝合四五针。术后各实验动物均肌注庆大霉素 4×10^4 U/d至术后第3天以预防可能出现的术后感染。实验动物均放回笼子正常饲养, 不予制动措施。随机将40只新西兰大白兔分为4组, 每组10只: 生理盐水对照组、富血小板血浆组、人脐带间充质干细胞组、富血小板血浆联合

人脐带间充质干细胞组。

干预: 损伤模型建立后在相应的组的关节腔内分别一次性注入生理盐水0.5 mL、12.5%富血小板血浆0.5 mL、 1×10^7 人脐带间充质干细胞0.5 mL、富血小板血浆与人脐带间充质干细胞0.5 mL(富血小板血浆0.5 mL溶人脐带间充质干细胞 1×10^7)。

组织学评分标准: 见表1。

指标检测: 造模12周后分别处死各组实验兔, 对膝关节软骨进行大体形态观察。切取实验侧兔膝关节体积分数10%甲醛固定, EDTA脱钙, 冰冻切片机切片, 行苏木精-伊红染色, 光镜下观察(40 \times); 根据O'Driscoll组织学评分标准对造模后12周切片进行组织学评分^[14], 分值越高表明修复效果越好。

主要观察指标: ①动物一般状况观察。②软骨修复大体形态观察结果。③苏木精-伊红染色组织学观察结果。④膝关节修复组织学评分结果。

统计学分析: 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用SPSS 16.0软件进行单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义^[4]。

2 结果 Results

2.1 实验动物数量分析 实验选用新西兰大白兔40只, 分为4组, 实验过程无脱失, 全部进入结果分析。

2.2 动物一般状况观察 40只实验兔麻醉及手术操作顺利, 术后均能正常活动、进食及饮水, 未出现膝关节红肿、流脓等感染表现, 未出现其他疾病情况。

2.3 富血小板血浆、人脐带间充质干细胞纯度 全血中的血小板数是 $(210.9 \pm 39) \times 10^9 L^{-1}$, 富血小板血浆中的血小板数是 $(1\ 146 \pm 205) \times 10^9 L^{-1}$, 富血小板血浆中的血小板数是全血中血小板数的5倍以上。

3代人脐带间充质干细胞流式细胞仪表面标志物鉴定 结果为CD105(99.22%), CD73 (99.99%), CD90(100%), CD45/34/11b/19/HLA-DR(0.50%)。通过多指标联合检测证实培养的细胞约99%为干细胞, 细胞纯度符合实验要求^[15-16]。

2.4 软骨修复大体形态观察结果 术后12周可见生理盐水对照组10只实验兔软骨损伤区域明显, 边缘无增生, 形态极不规则, 裂隙明显, 未见或极少见新生组织覆盖, 软骨退变严重(图2A); 人脐带间充质干细胞组10只实验兔膝关节软骨损伤区域较明显, 边缘增生, 形态规则, 中央部不平整, 可见新生组织覆盖, 覆盖组织呈白色, 与损伤边缘边界不清, 软骨退变严重(图2B); 富血小板血浆组10只实验兔膝关节软骨损伤区域已不明显, 大部分由软骨样组织长入, 新生组织与周围正常软骨组织无明显界限, 表面较光滑(图2C); 富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞组10只实验兔膝关节软骨损伤区域不明显, 全部由软骨样组织覆盖, 新生组织与周围正常软骨组织无明显界限, 表面光滑(图2D)。

表2 膝关节修复的组织学评分

Table 2 Histological scoring for repair of the knee joint

($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组织学评分	生理盐水对照组	人脐带间充质干细胞组	富血小板血浆组	富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞组
组织形态	0.3±0.5	1.7±0.5 ^a	3.4±0.5 ^{ab}	3.4±0.5 ^{ab}
基质染色	0.2±0.4	0.6±0.5 ^a	2.9±0.3 ^{ab}	3.0±0.0 ^{ab}
新生软骨厚度	0.3±0.5	1.0±0.0 ^a	1.8±0.4 ^{ab}	2.0±0.0 ^{ab}
表面整齐程度	0.8±0.6	1.5±0.5 ^a	2.3±0.5 ^{ab}	2.7±0.5 ^{ab}
与周围软骨整合程度	0.3±0.5	1.8±0.4 ^a	2.0±0.0 ^a	2.0±0.0 ^a
结构完整性	0.2±0.4	1.0±0.0 ^a	1.7±0.5 ^{ab}	1.7±0.5 ^{ab}
软骨细胞集群	0.5±0.5	0.7±0.5	1.7±0.5 ^{ab}	1.7±0.5 ^{ab}
细胞减少	0.3±0.5	0.7±0.5	2.6±0.5 ^{ab}	2.5±0.5 ^{ab}
相邻软骨退变炎症	0.7±0.7	1.0±0.7	2.5±0.5 ^{ab}	3.0±0.0 ^{ab}
总分	5.6±2.2	12.0±1.7 ^a	22.9±1.7 ^{ab}	24.0±2.1 ^{ab}

表注: 富血小板血浆组、富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞组两组修复组织为透明样软骨, 与周围软骨及软骨下骨结合较好, 表面平整度较好。与生理盐水对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与人脐带间充质干细胞组比较, ^b $P < 0.05$ 。

2.5 苏木精-伊红染色组织学观察结果 生理盐水对照组可见纤维组织填充, 细胞呈成纤维细胞样, 表面平整度差(图3A)。人脐带间充质干细胞组深部修复组织为透明样软骨, 浅部修复组织为纤维组织, 表面平整度较差(图3B)。富血小板血浆组为透明样软骨, 与周围软骨及软骨下骨结合较好, 表面平整度较好(图3C)。富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞组修复组织为透明样软骨, 与周围软骨及软骨下骨结合好, 表面平整度较好(图3D)。

2.6 膝关节修复组织学评分结果 见表2。

3 讨论 Discussion

骨关节炎多发于中年以后, 是一种以关节软骨退变、破坏和骨质增生为主要特征的慢性关节病, 主要临床表现为关节疼痛、晨僵、骨擦音和功能障碍。流行病学调查显示全球骨关节炎总患病率为15%; 国内报道65岁以上人群中骨关节炎发病率为60%~90%, 随年龄的增长, 发病率呈递增趋势。关节软骨是膝关节骨关节炎早期主要的受损组织, 软骨的损伤又会加速骨关节炎的进展, 因此骨关节炎临床治疗的重点在于保护和修复关节软骨^[17]。

目前临床上有多种治疗方法, 自2003年Mitchell等^[18]提出人脐带华尔通氏胶来源的基质细胞具有多能干细胞特性后, 越来越多的研究者加入到该领域的探索中, 对华尔通氏胶来源的脐带间充质干细胞的认识和利用取得了很大的进步。在细胞分离培养、冻存、体外诱导及体内移植等各方面的研究都备受瞩目, 在临床应用如治疗1型糖尿病、心血管疾病、血液系统疾病等方面取得了较好的成果^[19]。也有研究证明人脐带间充质干细胞具有有效的干细胞潜能, 在体外能诱导形成透明软骨细胞^[20]。自体富血小板血浆在外科治疗中也有广泛应用, 如在骨科、颌面外科、耳鼻喉科中骨的再生的应用, 有研究认为, 富血小板血浆具有促进移植骨成活和再生的能力^[17]; 可使骨形成速度增加2倍, 骨密度增加20%; 可使种植牙早期获得固位成功, 促

进皮肤和黏膜组织的创伤愈合等作用。

富血小板血浆中富含高浓度的血小板, 且含有多种生长因子, 如血小板衍生生长因子, 转化生长因子 $\beta 1$ 、2, 胰岛素样生长因子, 表皮生长因子和血管内皮生长因子等, 通过不同生长因子的相互作用, 结合靶细胞表面的受体, 激活细胞的信号通路, 诱导细胞产生伤口愈合所需的各种蛋白质和细胞增殖, 调整细胞排列形态且纤维蛋白在凝血酶的作用下释放出内部生长因子促进骨样组织恢复^[21-28]。

本实验通过2次离心法将血小板浓缩和分离出来, 可制作出超过末梢血体积分数338%的富血小板血浆, 浓缩后的血浆中含有高质量分数的生长因子, 联合人脐带间充质干细胞对兔子软骨损伤进行干预来研究在体内人脐带间充质干细胞、富血小板血浆对受损的关节软骨是否有修复作用。结果显示12周后, 生理盐水组全层覆盖纤维样组织, 人脐带间充质干细胞组表层有纤维样组织, 深部有透明软骨细胞, 富血小板血浆组全层大部、富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞组全层覆盖透明软骨细胞(苏木精-伊红染色)。O'Driscoll组织学评分显示人脐带间充质干细胞组、富血小板血浆组、富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞组较生理盐水组差异有显著性, 富血小板血浆组、富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞组较人脐带间充质干细胞组差异有显著性。得出结论富血小板血浆、人脐带间充质干细胞、富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞的修复效果优于生理盐水, 且富血小板血浆、富血小板血浆联合人脐带间充质干细胞修复效果优于人脐带间充质干细胞。人脐带间充质干细胞的修复效果比预想中差可能原因是人脐带间充质干细胞是异源的或注射剂量不足。

本实验在实验动物体内有一定的修复效果, 在人体是否有相同的功效有待进一步研究。

致谢: 感谢崔佳主任, 师兄王黎明, 师姐杨爽、吴婷芳对本研究的帮助。

作者贡献: 徐静负责课题的制定、实施及文章的撰写; 周立冬负责课题的实施及文章的撰写; 吴美、崔辉、赵璟、曾独娟负责课题的实施, 如动物饲养等; 张仲文、刘爱兵负责课题的制定及实施。

利益冲突: 文章及内容不涉及相关利益冲突。

伦理要求: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

学术术语: 血小板衍生生长因子(Platelet derived growth factor, PDGF)是贮存于血小板 α 颗粒中的一种碱性蛋白质, 是低分子量促细胞分裂素, 能刺激停滞于G0/G1期的成纤维细胞、神经胶质细胞、平滑肌细胞等多种细胞进入分裂增殖周期。

作者声明: 文章为原创作品, 无抄袭剽窃, 无泄密及署名和专利争议, 内容及数据真实, 文责自负。

4 参考文献 References

- [1] 周斌, 廖琦. 富血小板血浆促进骨修复的机制及应用. 中国组织工程研究[J]. 2012, 16(33):6228-6232.
- [2] 杜刚, 李林, 张波, 等. 富血小板血浆联合骨髓间充质干细胞对兔股骨头坏死的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(16): 205-208.
- [3] Chen L, Dong SW, Liu JP, et al. Synergy of Tendon Stem Cells and Platelet-Rich Plasma in Tendon Healing. J Orthop Res. 2012;30(6):991-997
- [4] Sanchez M, Anita E, Orive G, et al. Platelet-rich therapies in the treatment of orthopaedic sport injuries. Sports Med. 2009; 39(5):345-354.
- [5] Hall MP, Band PA, Meislin RJ, et al. Platelet-rich plasma: current concepts and application in sports medicine. J Am Acad Orthop Surg. 2009;17(10):602-608.
- [6] Mifune Y, Matsumoto Y, Takayama K, et al. The effect of platelet-rich plasma on the regenerative therapy of muscle derived stem cells for articular cartilage repair. Osteoarthritis and Cartilage. 2012;1-11.
- [7] 李明, 张长青. 富血小板血浆临床应用及其生物材料性能[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(8):1445-1448.
- [8] Drengk A, Zapf A, Stürmer EK, et al. Influence of platelet-rich plasma on chondrogenic differentiation and proliferation of chondrocytes and mesenchymal stem cells. Cells Tissues Organs. 2009;189(5):317-326.
- [9] 刘晓芳, 王熹芳, 李亚里, 等. 干细胞治疗糖尿病的研究现状及展望[J]. 中国科学: 生命科学, 2013, 43(4):291-297.
- [10] 陈国昌, 王熙然. 干细胞移植治疗糖尿病的国内外研究趋势分析. 中国组织工程研究[J]. 2012, 16(36):6834-6840.
- [11] 曲志国, 野向阳, 林辉, 等. 人脐带间充质干细胞诱导成骨及治疗骨缺损[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(45): 8503-8507.
- [12] Weibrich G, Hansen T, Kleis W, et al. Effect of platelet concentration in plate-rich plasma on peri-implant bone regeneration. Bone. 2004;34:665-671.
- [13] Petrunaro PS. Compend Contin Educ Dent. 2001; 22(9): 729-732.
- [14] Sun Y, Feng Y, Zhang CQ, et al. The regenerative effect of Platelet-rich Plasma on healing in large osteochondral defects. International Orthopaedics (SICOT). 2010; 34: 589-597.
- [15] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement. Cytotherapy. 2006;8(4):315-317.
- [16] Weiss ML, Medcetty S, Bledsoe AR, et al. Human umbilical cord matrix stem cells: Preliminary characterization and effect of transplantation in a rodent model of Parkinson's disease. Stem Cell. 2006;24(3):781-792.
- [17] 陈其春. 磁共振T2 mapping成像评估膝关节软骨的损伤与修复[D]. 南京: 南京医科大学. 南京医科大学第一临床学院. 2012.
- [18] Mitchell KE, Weiss ML, Mitchell BM, et al. Matrix cells from Wharton's jelly form neurons and glia. Stem Cells. 2003; 21(1): 50-60.
- [19] 黄鹏, 马廉. 人脐带间充质干细胞的应用研究现状[J]. 中国输血杂志. 2009, 22(3):169-172.
- [20] 柳菁, 许超, 宇丽, 等. 两种培养体系条件下人脐带间充质干细胞向软骨细胞的分化[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(41):7625-7630.
- [21] Xie X, Zhang C, Tuan RS. Biology of platelet-rich plasma and its clinical application in cartilage repair. Arthritis Res Ther. 2014;16(1):204.
- [22] Abrams GD, Frank RM, Fortier LA, et al. Platelet-rich plasma for articular cartilage repair. Sports Med Arthrosc. 2013;21(4): 213-219.
- [23] Betsch M, Schnependahl J, Thuns S, et al. Bone marrow aspiration concentrate and platelet rich plasma for osteochondral repair in a porcine osteochondral defect model. PLoS One. 2013;8(8):e71602.
- [24] Lee JC, Min HJ, Park HJ, et al. Synovial membrane-derived mesenchymal stem cells supported by platelet-rich plasma can repair osteochondral defects in a rabbit model. Arthroscopy. 2013;29(6):1034-1046.
- [25] Smyth NA, Murawski CD, Fortier LA, et al. Platelet-rich plasma in the pathologic processes of cartilage: review of basic science evidence. Arthroscopy. 2013;29(8):1399-1409.
- [26] Mifune Y, Matsumoto T, Takayama K, et al. The effect of platelet-rich plasma on the regenerative therapy of muscle derived stem cells for articular cartilage repair. Osteoarthritis Cartilage. 2013;21(1):175-185.
- [27] Hildner F, Albrecht C, Gabriel C, et al. State of the art and future perspectives of articular cartilage regeneration: a focus on adipose-derived stem cells and platelet-derived products. J Tissue Eng Regen Med. 2011;5(4):e36-51.
- [28] Ye FG, Li HY, Qiao GX, et al. Platelet-rich plasma gel in combination with Schwann cells for repair of sciatic nerve injury. Neural Regen Res. 2012;7(29): 2286-2292.