

组织工程技术修复关节软骨：如何构建新型复合模式？

杨瑞涛¹，宋会平²(¹华北理工大学，河北省唐山市 063000；²华北理工大学附属医院骨科，河北省唐山市 063000)

文章亮点：

- 1 此问题的已知信息：关节软骨缺损自我修复能力有限，传统手段难以修复，关节软骨组织工程为修复大范围关节软骨缺损提供了崭新的方法和途径。
- 2 文章增加的新信息：介绍新型种子细胞的选择、复合支架材料和纳米材料等新型材料的进展，并提供了细胞因子和关节软骨组织工程学复合模块等方面最新研究进展。
- 3 提供临床借鉴的价值：关节软骨组织工程学修复研究正在不断取得新的成果，新型复合模式的优化将有利于为临床关节软骨修复提供优选方法。

关键词：

组织构建；软骨组织工程；关节软骨；组织工程学；干细胞；支架；细胞因子；修复；河北省自然科学基金

主题词：

软骨；关节；干细胞；支架；细胞因子类

基金资助：

河北省自然科学基金(C2011401025)

摘要

背景：关节软骨缺损自我修复能力有限，传统手段难以修复，关节软骨组织工程为修复大面积关节软骨缺损提供了崭新的方法和途径。

目的：综述组织工程技术修复关节软骨的现状、问题及前景。

方法：检索 PubMed 数据库 1982 至 2015 相关文章，以“Articular cartilage, repair, tissue engineering”为检索词进行检索。纳入与关节软骨组织工程修复相关的文献，排除重复性研究。根据纳入标准，排除无关联或重复的文献，最终保留 39 篇文献进行综述。

结果与结论：优良的种子细胞具有软骨细胞分化潜能，目前用于关节软骨修复的种子细胞主要有间充质干细胞、胚胎干细胞、脂肪源干细胞及前软骨干细胞等 4 大类。生长因子趋向于联合应用，生长因子具有诱导宿主实质细胞在体内生长，提高种植的细胞稳定性，加快组织再生的作用。复合支架材料有利于促进细胞接种和细胞的空间分布，促进细胞增殖，是研究的热点。如何优化种子细胞、支架材料和细胞因子的选择和匹配，建立新型复合模式，以获得最佳的关节软骨修复效果，是未来的重要发展方向。

杨瑞涛，宋会平. 组织工程技术修复关节软骨：如何构建新型复合模式？[J]. 中国组织工程研究，2015，19(29):4736-4741.

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.29.028

Tissue engineering technology for articular cartilage repair: how to construct a new compound pattern?

Yang Rui-tao¹, Song Hui-ping² (¹North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, Hebei Province, China; ²Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, Hebei Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Articular cartilage has limited ability to repair itself, and the traditional means are difficult to repair articular cartilage defects, but articular cartilage tissue engineering provides new methods and approaches for large-area articular cartilage defects.

OBJECTIVE: To review the current status, problems and prospects of tissue engineering technology in articular cartilage repair.

METHODS: The retrieval of PubMed database was performed for articles published from 1982 to 2015, with the keywords of “articular cartilage, repair, tissue engineering” in English. Literatures related to tissue engineering repair of articular cartilage were included, but repetitive studies were excluded. Finally 39 articles were reserved in result analysis.

RESULTS AND CONCLUSION: Excellent seed cells have chondrogenic differentiation potential, and currently, the main seed cells for articular cartilage repair include mesenchymal stem cells, embryonic stem cells, adipose-derived stem cells and precartilaginous stem cells. Different growth factors, which can induce the *in vivo* growth of host parenchymal cells, improve seeded cell stability, and accelerate tissue regeneration, tend to be combined in clinical application. Composite scaffolds are also one of hot researches that can promote cell

杨瑞涛，男，河北省永年县人，汉族，2015 年华北理工大学毕业，硕士，医师，主要从事骨外科的研究。

通讯作者：宋会平，博士，教授，硕士生导师，主任医师，华北理工大学附属医院骨科，河北省唐山市 063000

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2015)29-04736-06

稿件接受: 2015-05-19

http://www.crter.org

Yang Rui-tao, Master, Physician, North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, Hebei Province, China

Corresponding author: Song Hui-ping, M.D., Professor, Master's supervisor, Chief physician, Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of North China University of Science and Technology, Tangshan 063000, Hebei Province, China

Accepted: 2015-05-19

inoculation and spatial distribution as well as accelerate cell proliferation. To obtain the best effectiveness of articular cartilage repair, how to optimize seed cells, select and match scaffold materials to construct new types of composite patterns is an important direction in the future.

Subject headings: Cartilage, Articular; Stem Cells; Stents; Cytokines

Funding: the Natural Science Foundation of Hebei Province, No. C2011401025

Yang RT, Song HP. Tissue engineering technology for articular cartilage repair: how to construct a new compound pattern? *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2015; 19(29):4736-4741.

0 引言 Introduction

关节软骨损伤后难以自行修复, 是困扰临床外科的一大难题。目前治疗关节软骨损伤或缺损的方法主要包括关节镜清创术、骨髓刺激术、关节软骨及软骨细胞移植等^[1]。关节软骨清创术对早期关节炎疗效显著, 但远期疗效较差; 骨髓刺激技术是通过钻孔刺激骨髓间叶细胞移至软骨下骨促进软骨再生, 但主要是纤维软骨修复, 其缺少透明软骨应有的生物力学和组织学特性, 当受到剪切力和压力时表现出稳定性差, 易蜕变, 其临床疗效受年龄等多因素影响^[2]。自体软骨移植不仅造成供区损伤, 而且可供范围有限; 异体关节软骨移植又不可避免的存在免疫排斥反应。自体软骨细胞移植(ACI)已被用于治疗骨关节炎近30年, 可减缓骨性关节炎的发展和延缓部分或全部关节置换手术^[3]。MACI技术(Matrix-ACI)是在自体软骨细胞移植技术基础上发展来的, 是通过基质引导的自体软骨细胞种植术, 可缩短手术和使用止血带的时间^[4]。但自体软骨细胞移植和MACI均难以修复大范围缺损, 且对供区造成损伤。随着组织工程学的发展, 关节软骨的再生和修复获得了崭新理念和模式, 并且已经取得重要进展。

本文从种子细胞、支架材料、细胞因子以及关节软骨组织工程学新型复合模式4个方面的研究进展进行简要综述。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

检索人及检索时间: 第一作者在2015年3月检索。

检索文献时限: 1982年1月至2015年3月。

检索数据库: PubMed数据库, 网址: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>。

检索词: 英文检索词为“Articular cartilage, repair, tissue engineering”。

检索文献类型: 实验研究、临床研究及综述文献。

1.2 入选标准 ①关节软骨组织工程学相关文献。②关节软骨损伤修复相关文献。

1.3 质量评估 检索为英文文献, 根据纳入标准, 排除不符合文献, 共纳入39篇文献进行综述。

2 结果 Results

2.1 纳入文献基本情况 共纳入39篇文献, 其中引出关

节软骨组织工程的必要性4篇^[1-4], 关于种子细胞12篇^[5-16], 关于生物支架材料11篇^[17-27], 关于生长因子8篇^[28-35], 涉及关节软骨组织工程学新型复合模式3篇^[36-38]。

2.2 文献证据综合提炼

2.2.1 种子细胞 关节软骨组织工程修复的核心是种子细胞。目前用于关节软骨修复的种子细胞主要有间充质干细胞、胚胎干细胞、脂肪源干细胞及前软骨干细胞等4大类。

间充质干细胞是来源于中胚层的多能祖细胞, 可来自人体的各种组织, 包括骨髓间充质干细胞, 脐带血, 肌肉组织, 脂肪组织。来自人类脂肪组织的间充质干细胞成功分化成有功能的成白色或棕色脂肪细胞以及神经、肌肉、肌腱、骨、软骨细胞。间充质干细胞存在于骨髓、软骨膜、骨膜等组织, 可多向分化, 在不同条件下可分化成软骨细胞、成骨细胞、成纤维细胞等, 用于病变引起的组织器官损伤修复。

间充质干细胞常作为软骨组织移植的种子细胞, 用以修复关节软骨缺损, 有利于组织工程软骨增殖和分化。Baqhaban等^[5]和Bornes等^[6]提出间充质干细胞移植是关节软骨组织工程修复的一种好方法, 研究发现间充质干细胞能够治疗膝关节和踝关节创伤性软骨缺损, 且广泛应用于关节软骨修复。骨髓间充质干细胞首次由Fridenshtein^[7]发现。骨髓间充质干细胞具有多向分化潜能, 在体内或体外特定条件诱导下, 可以分化为成骨细胞、脂肪细胞、肌腱细胞和骨髓基质。此外, 骨髓间充质干细胞在连续传代和冻存后仍保持多向分化潜能, 因此是较理想的种子细胞^[8]。

Zhu等^[9]认为骨髓间充质干细胞作为种子细胞在体外构建组织工程化软骨是可行的。结果表明, 极少量骨髓经体外扩增即可获得足够数量的关节软骨组织工程用种子细胞, 可满足临床用量。骨髓间充质干细胞可分化为软骨细胞并在体内形成软骨组织, 缺陷是由于取材困难并且给患者带来较大痛苦, 因此临床应用受限。

脂肪源干细胞可以诱导分化成软骨、骨、脂肪、肌肉等。脂肪源干细胞相对于骨髓间充质干细胞优势在于, 在获取时给患者带来的痛苦较少, 且容易取材, 细胞增殖较快^[10]。研究发现脂肪源干细胞是治疗关节软骨缺损的一条新路径, 脂肪源干细胞直接注入骨关节炎关节治疗关节软骨缺损^[10], 可向软骨细胞分化。

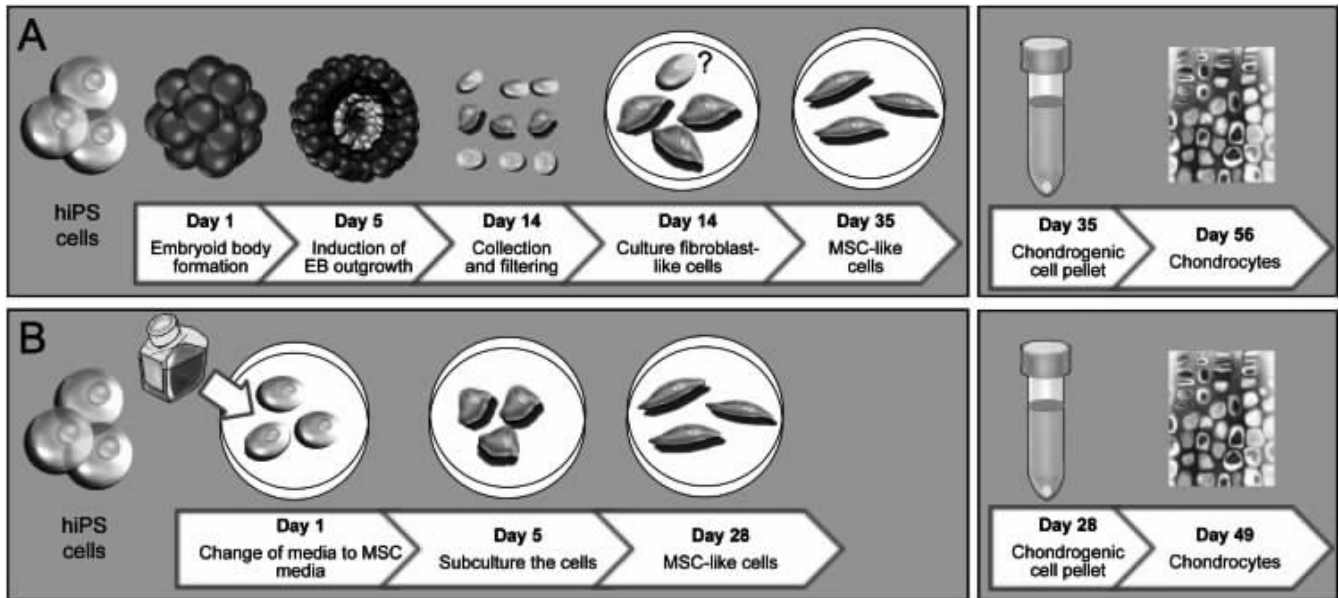


图1 人诱导多能干细胞向软骨细胞分化^[14]

图注: 图A为通过胚体的形成人诱导多能干细胞向软骨细胞分化, 选择中胚层细胞, 诱导分化为间充质干细胞和软骨细胞; B为不通过胚体形成过程, 多能干细胞直接分化为间充质干细胞(hiPSC-MSCs), 再向软骨细胞分化。

将脂肪源干细胞的注入病变关节, 可促进透明软骨再生以治疗骨关节炎。由于其更好的生物利用度和容易大量取材, 脂肪源干细胞的功能研究, 包括软骨细胞分化及体内研究, 已经引起关节软骨组织工程领域的极大兴趣。

胚胎干细胞是从早期胚胎中分离出来的一类细胞, 胚胎干细胞是种子细胞领域中的一个重要的新资源, 其主要的缺点是在移植后存在形成肿瘤的风险。替代的方法是使用多谱系限制的祖细胞, 将不形成畸胎瘤^[11]。Toh等^[12]将由人胚胎干细胞分化而来的软骨细胞用于裸鼠体内关节软骨缺损修复。结果表明, 胚胎干细胞植入体内12周后, 关节软骨缺损处可见高度有序排列的软骨组织, 软骨结构具有透明质酸样软骨层、软骨表面结构完整且与相邻自然骨结合完好, 修复后再生的软骨组织与未经修复的自然软骨组织相似。但由于受伦理等问题的影响, 胚胎干细胞在临床应用受限。

Wu等^[13]提出前软骨干细胞是关节软骨组织工程的良好种子细胞, 低能量620 nm红光照射诱导前软骨干细胞向软骨细胞分化, 研究发现该波长的红光促进其细胞外基质分泌并诱导其向软骨细胞分化。

Nejadnik等^[14]提出多能干细胞能修复关节透明软骨, 人诱导多能干细胞向软骨细胞分化模式图见图1。最近, 使用病毒独立编程技术从脂肪干细胞或成纤维细胞产生的人自体诱导多能干细胞^[15-16], 已被引入用于创建特定患者的软骨生成, 作为临床应用的来源。与同种异体细胞不同, 自体诱导多能干细胞不产生免疫反应; 与胚胎干细胞不同的是其不存在伦理问题, 已成为可供

选择的新型细胞来源。

2.2.2 生物支架材料 支架材料在关节软骨组织工程的实现起着至关重要的作用。一种多样性的生物支架具有独特的生化、生物力学和形态学特性。不同的特性可被用于制造特异性的支架用于组织工程器官^[17]。理想支架材料具有以下条件^[17]: 无毒、无免疫排斥、组织相容性高; 生物支架材料降解时间适宜; 生物力学特性好; 可塑性高; 可用性强。生物支架材料应用于关节软骨的主要有天然支架、合成支架、纳米支架和复合支架材料等4类^[18]。复合支架材料、纳米材料等新型材料的研究是目前研究的重要热点领域之一。

复合支架材料有利于促进细胞接种和细胞的空间分布, 促进细胞增殖。研究发现PLGA/胶原复合材料显著提高软骨细胞的增殖和软骨基质的分泌, 是软骨-骨界面组织缺损修复的良好支架材料^[19]。Yan等^[20]提出脱细胞的软骨细胞外基质合成材料(聚己内酯, 聚乳酸-羟基乙酸共聚物, 聚乳酸)具有良好的生物相容性和力学强度, 可诱导关节软骨再生。

研究发现软骨细胞外基质在体内可诱导间充质干细胞分化成软骨细胞。Stocco等^[21]发现聚乙烯醇与细胞外基质新型复合支架材料, 优势在于体内、体外都较单一支架更好诱导软骨形成并促进软骨细胞的黏附, 可提供适宜软骨细胞生长的仿生微环境。Wang等^[22]研究发现具有低渗透性不完全隔离双层支架材料可用于关节软骨组织工程。这种双层结构在植入过程中可以提供良好的初始稳定性和较好的机械支持, 体外研究表明, 高通透性支架增强骨髓间充质干细胞向软骨细胞分化, 而低渗透性支架利于软骨细胞生长。

近几年, 纳米技术尤其是纳米支架材料的应用研究明显加快了组织工程学发展。Liu等^[23]研究发现3D纳米纤维结构对诱导多能干细胞作用是, 可诱导体外培养的软骨细胞和影响非负重区关节软骨缺损修复。结果显示, 培养的纳米纤维支架增强诱导多能干细胞的生长和分化。此外, 诱导多能干细胞种子支架移植到软骨缺损区, 修复效果优于单纯支架移植。

Chaudhury等^[24]认为当电纺纳米纤维掺入到纤维支架, 使该支架模仿天然细胞外基质, 从而维持在无血清的条件下细胞构成。这增强了糖胺聚糖在支架上的沉积, 进而证明其是促进软骨再生的一种有效方法。

生成的支架类似于在体内软骨细胞的形成, 蛋白质和肽纳米纤维结合后引起糖胺聚糖沉积, 随后形成软骨组织。结果表明在组织工程学中纳米技术的应用彻底改变了移植/支架系统的传统应用, 使细胞和组织的再生性能的设计显著增强; 但缺陷是这个领域还处于起步阶段, 纳米水平的细胞生物材料相互作用的机制还不是很清楚, 在临床应用之前, 还需对这些纳米材料的功用和毒性效应有更详细的研究。

Lim等^[25]提出将纳米技术应用于软骨组织工程可生产仿生软骨再生支架。纳米支架材料有较高的表面积与体积比, 可促进蛋白质的吸附和配体的结合, 这意味着存在一些结合位点和定向功能, 更好的呈现了细胞受体和具有天然细胞外基质的功能在支架生产的仿生学重要意义。

石墨烯(Graphene, G)是一种具有特殊的理化性能和机械性能的纳米生物材料, 它被越来越多地开发用于药物递送和组织工程应用中。Gu等^[26]发现G的对骨再生的作用机制, G提高植入物或支架材料的力学和生物学性能的能力, 如镍钛合金和碳纳米管, 并能促进种子细胞黏附、增殖。G在体内具有生物相容性, G对骨分化又有促进能力。Lee等^[27]最近研究发现纳米G材料与间充质干细胞复合体外培养可促进间充质干细胞软骨分化, G微粒为软骨组织的形成和成熟充当“成长因子工厂”, 这种新合成的细胞组装复合材料为软骨组织工程构建提供了新途径。

2.2.3 细胞因子 关节软骨细胞的增殖、分化和自我更新过程离不开生长因子的作用。生长因子决定功能化的关节软骨的定向分化, 生长因子诱导宿主实质细胞在体内生长, 提高种植的细胞稳定性, 加快组织再生^[28]。研究发现能够调控关节软骨修复作用的生长因子主要有转化生长因子 β 、成纤维生长因子、胰岛素样生长因子、骨形态发生蛋白^[28]。

转化生长因子 β 广泛存在于各种组织中, 在软骨组织工程中, 转化生长因子 β 是目前软骨损伤修复的主要生长因子。研究表明该联合应用较单一因子的效果更好, 可构建无支架的新生软骨。Murphy等^[29]发现转化

生长因子 β 1、骨形态发生蛋白2 β 和GDF-5联合应用可诱导软骨形成, 刺激人关节软骨细胞和骨髓间充质干细胞增殖。

利用转化生长因子 β 与其他诱导因子基因联合, 目前这种转染种子细胞方法是关节软骨组织工程学一个研究方向, 可发挥多基因诱导的协同作用。Frisch等^[30]提出转化生长因子 β 可能通过重组腺相关病毒(rAAV)载体介导的基因转移促进间充质干细胞向软骨细胞分化, 结果表明转化生长因子 β 可促进间充质干细胞分化为软骨细胞治疗关节软骨缺损。Rocha等^[31]发现转化生长因子 β 可有效诱导并促进脂肪源干细胞向软骨细胞分化, 定向分化和增殖能力更加优于脂肪源干细胞的单独作用。

骨形态发生蛋白增加软骨细胞基质的合成, 提高软骨修复效率, 有研究表明其促进作用显著, 可促使细胞向软骨细胞表型方向分化。Karl等^[32]提出成熟关节软骨细胞经转化生长因子 β 和碱性成纤维细胞生长因子联合诱导培养可形成再生软骨祖细胞, 其用于构建自体源性工程组织, 完成关节软骨缺损修复。Jiang等^[33]提出在诱导间充质干细胞向软骨细胞分化时骨形态发生蛋白4比骨形态发生蛋白7效率更高。且诱导的软骨细胞, 在数量及形态上与天然软骨类似。这些特性使得骨形态发生蛋白成为近些年的研究热点。

胰岛素样生长因子可促进成软骨种子细胞增殖, 还可刺激软骨细胞II型胶原的合成并维持软骨细胞生长。转化生长因子 β 3/骨形态发生蛋白2联合基因应用于软骨组织工程, 通过转染骨髓间充质干细胞诱导其成软骨细胞分化, 联合基因转染效率较单基因转染效率高^[34]。研究发现关节腔内注射转化生长因子 β 1可促进软骨基质的分泌及软骨细胞再生, 有望用于研发成为延缓骨性关节炎发病进程的新型药物。富血小板血浆富含多种生长因子, 当由激动剂如凝血酶激活, 富血小板血浆释放包括血小板衍生的生长因子、表皮生长因子、碱性成纤维生长因子、纤连蛋白和胰岛素样生长因子1等, 已经被成功用于骨性关节炎, 以促进软骨修复^[35]。

2.2.4 关节软骨组织工程学新型复合模式 生物反应器可模拟体内微环境、可运输营养物质供细胞生长、可形成细胞生长所需的力学刺激。与细胞复合培养时, 对提高组织工程关节软骨的力学特性有益。利用灌注生物反应器三维培养模式, 可促进细胞的黏附、生长和分化, 减少细胞之间的接触抑制^[36]。

Man等^[37]研究发现同轴电纺支架含有骨髓间充质干细胞特异性亲和肽(E7)和重组人转化生长因子 β 1(CbrhTE)。基于同轴静电纺丝技术, CBrhTE支架不仅可以提高骨髓间充质干细胞的黏附和生长, 而且提高了软骨细胞分化的潜能, 还可同步提高软骨组织工程所

需的3个基本组成部分。因此, CBrhTE支架的发展为设计和建立更高效的修复软骨组织的特殊支架铺平了道路。Zhu等^[38]发现使用骨髓间充质干细胞与PGA高密度聚丙烯支架构建软骨是可行的, 解决了临床使用工程软骨的一些阻碍, 如体积有限、形变和数量有、种子细胞等问题。研究表明, 软骨细胞培养基中转化生长因子 α 能够上调 α -SMA的表达; 而聚乙烯具有足够的机械强度以承受由成软骨诱导产生的收缩力, 并维持原有的形状和大小。

3 展望 Prospects

当前, 关节软骨组织工程修复取得的成果令人欢欣鼓舞, 但关节软骨组织工程修复研究仍主要处于实验研究阶段, 如何优化种子细胞、支架材料和细胞因子的选择和匹配, 以获得最佳的关节软骨修复效果, 是未来的重要发展方向。由于越来越重视对软骨下骨的研究, 将软骨及软骨下骨视为统一的复合功能单元综合研究作为未来主要的治疗策略之一^[39]。比如, 构建骨与软骨双层复合工程, 可同时形成骨细胞和软骨, 新生区修复和周围组织结合程度将会提高, 软骨组织将会保持结构完整性以及软骨与软骨下骨结合的牢固性, 为关节软骨损伤的提供更好的治疗。如何利用组织工程技术实现软骨组织原位再生, 达到关节软骨的理想修复, 仍是未来重要的研究和研究方向。

作者贡献: 第一作者和通讯作者构思并设计本综述, 所有作者共同起草, 经通讯作者审校, 第一作者对本文负责。

利益冲突: 文章及内容不涉及任何利益冲突。

伦理要求: 不涉及伦理冲突的内容。

学术术语: 细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是由动物细胞合成并分泌到胞外、分布在细胞表面或细胞之间的大分子, 主要是一些多糖和蛋白, 或蛋白聚糖。这些物质构成复杂的网架结构, 支持并连接组织结构、调节组织的发生和细胞的生理活动。细胞外基质是动物组织的一部分, 不属于任何细胞。它决定结缔组织的特性, 对于一些动物组织的细胞具有重要作用。

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] Emans PJ, Surtel DA, Frings EJ, et al. In vivo generation of cartilage from periosteum. *Tissue Eng.* 2005;11(3-4):369-377.
- [2] 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(5):477-484.
- [3] Mobasheri A, Kalamegam G, Musumeci G, et al. Chondrocyte and mesenchymal stem cell-based therapies for cartilage repair in osteoarthritis and related orthopaedic conditions. *Maturitas.* 2014;78(3):188-198.
- [4] Goldberg AJ, Lee DA, Bader DL, et al. Autologous chondrocyte implantation. Culture in a TGF-beta-containing medium enhances the re-expression of a chondrocytic phenotype in passaged human chondrocytes in pellet culture. *J Bone Joint Surg Br.* 2005;87(1):128-134.
- [5] Baqhaban Eslaminejad M, Malakooty Poor E. Mesenchymal stem cells as a potent cell source for articular cartilage regeneration. *World J Stem Cells.* 2014;6(3):344-354.
- [6] Bornes TD, Adesida AB, Jomha NM. Mesenchymal stem cells in the treatment of traumatic articular cartilage defects: a comprehensive review. *Arthritis Res Ther.* 2014;16(5):432.
- [7] Fridenshtein Ala. Stromal bone marrow cells and the hematopoietic microenvironment. *Arkh Patol.* 1982;44:3-11.
- [8] Song Z, Wu C, Sun S, et al. Quantitative analysis of factors influencing tissue-engineered bone formation by detecting the expression levels of alkaline phosphatase and bone γ -carboxylglutamate protein 2. *Exp Ther Med.* 2015;9(4):1097-1102.
- [9] Zhu L, Jiang H, Zhou GD, et al. Preliminary study of constructing tissue-engineered cartilage with the endoskeletal scaffold of HDPE by bone marrow stromal cells. *Zhonghua Zheng Xing WaiKeZaZhi.* 2008;24(5):377-381.
- [10] Stromps JP, Paul NE, Rath B, et al. Chondrogenic differentiation of human adipose-derived stem cells: a new path in articular cartilage defect management? *Biomed Res Int.* 2014;2014:740926.
- [11] Peppo GM, Svensson S, Lenneras M, et al. Human embryonic mesodermal progenitors highly resemble human mesenchymal stem cells and display high potential for tissue engineering applications. *Tissue Eng Part A.* 2010;16(7):2161-2182.
- [12] Toh WS, Lee EH, Guo XM, et al. Cartilage repair using hyaluronan hydrogel-encapsulated human embryonic stem cell-derived chondrogenic cells. *Biomaterials.* 2010;31(27):6968-6980.
- [13] Wu L, Bluguermann C, Kyupelyan L, et al. Human developmental chondrogenesis as a basis for engineering chondrocytes from pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports.* 2013;1(6):575-89.
- [14] Nejadnik H, Diecke S, Lenkov OD, et al. Improved Approach for Chondrogenic Differentiation of Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Rev.* 2015 Jan 13. [Epub ahead of print]
- [15] Medvedev SP, Grigor'eva EV, Shevchenko AI, et al. Human induced pluripotent stem cells derived from fetal neural stem cells successfully undergo directed differentiation into cartilage. *Stem Cells Dev.* 2011;20(6):1099-112.
- [16] Nestor MW, Paull D, Jacob S, et al. Differentiation of serum-free embryoid bodies from human induced pluripotent stem cells into networks. *Stem Cell Res.* 2013;10(3):454-63.
- [17] Taghiabadi E, Nasri S, Shafieyan S, et al. Fabrication and characterization of spongy denuded amniotic membrane based scaffold for tissue engineering. *Cell J.* 2015;16(4):476-87.
- [18] Sridhar BV, Brock JL, Silver JS, et al. Development of a Cellularly Degradable PEG Hydrogel to Promote Articular Cartilage Extracellular Matrix Deposition. *Adv Healthc Mater.* 2015 Jan 21.

- [19] Nanda HS, Chen S, Zhang Q, et al. Collagen scaffolds with controlled insulin release and controlled pore structure for cartilage tissue engineering. *Biomed Res Int.* 2014;2014: 623805.
- [20] Yan S, Wang T, Feng L, et al. Injectable in situ self-crosslinking hydrogels based on poly(L-glutamic acid) and alginate for cartilage tissue engineering. *Biomacromolecules.* 2014;15(12):4495-508.
- [21] Stocco E, Barbon S, Dalzoppo D, et al. Tailored PVA/ECM Scaffolds for Cartilage Regeneration. *Biomed Res Int.* 2014: 762189.
- [22] Wang YC, Meng HY, Yuan XL, et al. Fabrication and in vitro evaluation of an articular cartilage extracellular matrix-hydroxyapatite bilayered scaffold with low permeability for interface tissue engineering. *BioMedical Engineering Online.* 2014;13:80.
- [23] Liu J, Nie H, Xu Z, et al. The effect of 3D nano fibrous scaffolds on the chondrogenesis of induced pluripotent stem cells and their application in restoration of cartilage defects. *PLoS One.* 2014;9(11):e111566.
- [24] Chaudhury K, Kumar V, Kandasamy J, et al. Regenerative nanomedicine: current perspectives and future directions. *Int J Nanomedicine.* 2014;9:4153-4167.
- [25] Lim EH, Sardinha JP, Myers S. Nanotechnology Biomimetic Cartilage Regenerative Scaffolds. *Arch Plast Surg.* 2014; 41(3):231-240.
- [26] Gu M, Liu Y, Chen T, Du F, et al. Is graphene a promising nano-material for promoting surface modification of implants or scaffold materials in bone tissue engineering? *Tissue Eng Part B Rev.* 2014;20(5):477-491.
- [27] Lee WC, Lim CH, Kenry, et al. Cell-assembled graphene biocomposite for enhanced chondrogenic differentiation. *Small.* 2015;11(8):963-969.
- [28] Klangjorhor J, Phitak T, Pruksakorn D, et al. Comparison of growth factor adsorbed scaffold and conventional scaffold with growth factor supplemented media for primary human articular chondrocyte 3D culture. *BMC Biotechnol.* 2014; 14(1):959.
- [29] Murphy MK, Huey DJ, Hu JC, et al. TGF- β 1, GDF-5, and BMP-2 Stimulation Induces Chondrogenesis in Expanded Human Articular Chondrocytes and Marrow-Derived Stromal Cells. *Stem Cells.* 2015;33(3):762-773.
- [30] Frisch J, Venkatesan JK, Rey-Rico A, et al. Determination of the chondrogenic differentiation processes in human bone marrow-derived mesenchymal stem cells genetically modified to overexpress transforming growth factor- β via recombinant adeno-associated viral vectors. *Hum Gene Ther.* 2014;25(12): 1050-1060.
- [31] Rocha PM, Santo VE, Gomes ME, et al. Encapsulation of adipose-derived stem cells and transforming growth factor-1 in carrageenan-based hydrogels for cartilage tissue engineering. *J Bioact Compat Polym.* 2011;26 (5): 493-507.
- [32] Karl A, Olbrich N, Pfeifer C, et al. Thyroid hormone-induced hypertrophy in mesenchymal stem cell chondrogenesis is mediated by bone morphogenetic protein-4. *Tissue Eng Part A.* 2014;20(1-2):178-188.
- [33] Jiang Y, Chen LK, Zhu DC, et al. The inductive effect of bone morphogenetic protein-4 on chondral-lineage differentiation and in situ cartilage repair. *Tissue Eng Part A.* 2010;16(5): 1621-32.
- [34] Elder S, Thomason J. Effect of Platelet-Rich Plasma on Chondrogenic Differentiation in three-dimensional culture. *Open Orthop J.* 2014 ;8:78-84.
- [35] Mascarenhas R, Saltzman BM, Fortier LA, et al. Role of platelet-rich plasma in articular cartilage injury and disease. *J Knee Surg.* 2015;28(1):3-10.
- [36] Wang Y, Kim UJ, Blasioli DJ, et al. In vitro cartilage tissue engineering with 3D porous aqueous-derived silk scaffolds and mesenchymal stem cells. *Biomaterials.* 2005;26: 7082-7094.
- [37] Man Z, Yin L, Shao Z, et al. The effects of co-delivery of BMSC-affinity peptide and rhTGF- β 1 from coaxial electrospun scaffolds on chondrogenic differentiation. *Biomaterials.* 2014; 35(19):5250-5360.
- [38] Zhu L, Wu Y, Jiang H, et al. Engineered cartilage with internal porous high-density polyethylene support from bone marrow stromal cells: A preliminary study in nude mice. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2010;48(6):462-465.
- [39] Araki S, Imai S, Ishigaki H, et al. Improved quality of cartilage repair by bone marrow mesenchymal stem cells for treatment of an osteochondral defect in a cynomolgus macaque model. *Acta Orthop.* 2015;86(1):119-126.