

组织工程支架材料修复关节软骨缺损

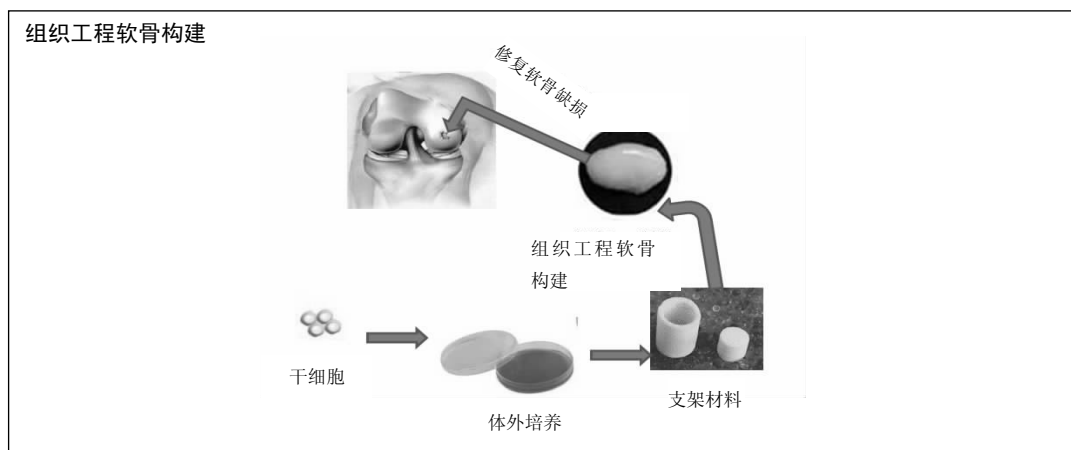
方洪松, 周建林, 彭 昊, 邓 爽, 翁金清, 刘 丰, 陈 森, 周观金(武汉大学人民医院骨关节外科, 湖北省武汉市 430060)

引用本文: 方洪松, 周建林, 彭昊, 邓爽, 翁金清, 刘丰, 陈森, 周观金. 组织工程支架材料修复关节软骨缺损[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(52):7891-7898.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.52.020

ORCID: 0000-0003-2288-9640(方洪松)

文章快速阅读:



方洪松, 男, 1972 年生, 浙江省诸暨市人, 汉族, 1996 年湖北医科大学毕业, 硕士, 副主任医师, 主要从事股骨头坏死及骨关节炎方向的研究。

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2016)52-07891-08

稿件接受: 2016-11-02

文题释义:

关节软骨损伤: 关节软骨损伤后其修复能力较差, 并会导致进行性关节损伤, 损伤不能通过常规治疗恢复。通过组织工程生物材料重塑关节软骨周围环境, 促进软骨修复是目前关注的热点问题。

组织工程软骨: 组织工程软骨的构建取决于合适的支架材料, 丰富的细胞来源以及细胞因子的刺激作用。支架材料是构建组织工程软骨的要素之一, 可以允许细胞在材料的三维微环境中生长、迁移, 近年来各种生物材料已被用于软骨修复, 但结果远不能实现天然软骨结构和功能。

摘要

背景: 关节软骨缺损修复一直是临床上的一个难题, 以往主要采用自体或异体骨软骨移植修复、软骨膜或骨膜移植等对软骨缺损组织进行修复, 但由于存在来源有限、供区继发病变和免疫排斥反应等限制了其应用。近年来越来越多的研究表明, 软骨组织工程修复技术对于软骨再生及修复具有重要意义。

目的: 探讨关节软骨缺损修复中软骨组织工程支架材料的研究进展。

方法: 由第一作者在 CNKI、PUBMED 和万方数据库以检索词“关节软骨缺损, 支架材料, 组织工程软骨, cartilage defect, scaffold, tissue engineered cartilage”检索 1991 至 2015 年有关组织工程支架材料修复关节软骨缺损的相关中文和英文文献, 排除重复文献及不相关研究。

结果与结论: ①根据纳入和排除标准, 最终纳入 48 篇文献进一步分析; ②软骨组织工程有着可控、对自身组织创伤小、对损伤软骨可进行生物性修复等突出优点, 组织工程支架材料是组织工程构建的成功因素, 良好的组织工程支架材料应具有生物降解性及组织相容性; ③目前常用的支架材料包括天然高分子材料、人工合成高分子材料, 如胶原、丝素蛋白、壳聚糖等天然高分子材料, 聚乳酸、磷酸三钙等人工合成材料, 将不同材料的优点整合, 获得优良的复合支架成为目前研究的主要方向; ④因此, 制备出高生物学活性的复合支架软骨组织工程支架材料成为今后的研究重点, 组织工程学技术必将在关节软骨缺损修复中发挥越来越大的作用。

关键词:

生物材料; 软骨生物材料; 关节软骨; 缺损; 支架材料; 修复; 国家自然科学基金

主题词:

软骨; 生物相容性材料; 壳聚糖; 胶原; 组织工程

基金资助:

国家自然科学基金资助项目(81301592)

Fang Hong-song, Master,
Associate chief physician,
Department of Bone and
Joint Surgery, Renmin
Hospital of Wuhan
University, Wuhan 430060,
Hubei Province, China

Tissue-engineered scaffolds for articular cartilage repair

Fang Hong-song, Zhou Jian-lin, Peng Hao, Deng Shuang, Weng Jin-qing, Liu Feng, Chen Sen, Zhou Guan-jin (Department of Bone and Joint Surgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Articular cartilage repair has been a difficulty in the clinical setting, which is mainly treated with autologous or allogeneic osteochondral grafts, and cartilage periosteum or periosteum grafts. However, the limited source, secondary lesion and immunological rejection force some researchers to search for a novel treatment strategy, cartilage tissue engineering, that is of great significance for cartilage regeneration and repair.

OBJECTIVE: To investigate the tissue-engineered scaffolds for the repair of articular cartilage defects.

METHODS: The first author searched the PubMed and WanFang databases for the articles addressing tissue-engineered cartilage for articular cartilage defects published between 1991 and 2015 using the keywords "articular cartilage defect, scaffold, tissue engineered cartilage" in English and Chinese, respectively. The irrelative and repetitive literatures were excluded.

RESULTS AND CONCLUSION: Finally 48 eligible literatures were enrolled based on the inclusion and exclusion criteria. Cartilage tissue engineering possesses the advantages of controllability, little damage to tissue itself, and biological repair of injured cartilage. Tissue-engineered scaffold material is a critical factor in tissue engineering construction; therefore, it should hold biodegradability and histocompatibility. The commonly used scaffold materials include natural macromolecule materials (collagen, silk fibroin and chitosan), and synthetic polymer materials (polylactic acid and tricalcium phosphate). It is necessary to prepare composite scaffolds with high bioactivity integrate advantages of each material. The tissue engineering is bound to be a hotspot in the field of articular cartilage repair.

Subject headings: Cartilage; Biocompatible Materials; Chitosan; Collagen; Tissue Engineering

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81301592

Cite this article: Fang HS, Zhou JL, Peng H, Deng S, Weng JQ, Liu F, Chen S, Zhou GJ.

Tissue-engineered scaffolds for articular cartilage repair. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(52):7891-7898.

0 引言 Introduction

关节软骨缺损是骨关节临床常见病之一, 各种损伤炎症和退变均可引起不可逆性软骨损伤, 由于软骨组织内没有血管供应、神经支配和淋巴回流, 加之细胞成份单一, 其自身修复能力非常有限, 一旦损伤难于完全再生修复。有报道显示, 直径 $< 3\text{ mm}$ 的软骨缺损有可能部分或全部修复, 直径 $> 4\text{ mm}$ 则不能自行修复^[1-2]。因此关节软骨缺损在医学临床上越来越受到关注, 是骨科领域一大难题。针对软骨缺损的修复, 主要出于两个目的: 首先是要缓解关节疼痛和恢复关节功能; 其次是阻止或至少延缓关节炎的进展^[3-4]。

目前关节软骨缺损的修复主要包括自体或异体骨软骨移植修复、软骨细胞移植、半月板移植及软骨膜或骨膜移植修复, 骨软骨移植和细胞移植技术相对成熟, 自体骨软骨移植可生成正常的透明软骨, 早、中期临床效果好, 最常用的自体软骨是肋软骨, 肋软骨取材方便、对机体损害小, 但存在供体有限、供区继发病变, 进行性供区结构异常, 移植早期吸收,

有限的可供使用的软骨块体积及移植软骨与受区结合能力差等, 不适合进行大面积软骨缺损治疗等多方面缺点限制了它的应用; 异体骨软骨移植临床效果较好, 但有一定的局限性, 如免疫排斥反应及疾病感染等^[5-7]。利用软骨膜或骨膜移植修复关节面软骨缺损已广泛应用于软骨缺损修复, 自体骨膜不仅有成骨能力, 而且还具有成软骨能力, 其参与修复关节软骨缺损区的细胞有骨膜内未分化间充质细胞和骨原细胞, 其参与修复关节软骨缺损区的细胞有骨膜内未分化间充质细胞和骨原细胞^[8]。将产生软骨的一面朝向关节腔, 因为在正常解剖的位置这层软骨生发面紧贴着软骨, 它能产生新的软骨。由于自体游离骨膜来源广, 移植后产生的软骨质量高, 为修复创伤、退变等病因造成的关节软骨缺损提供了一种新的有效方法。王与荣等^[9]实验选用成年健康家兔24只, 手术造成双侧髌股关节股骨关节面直径 4.5 mm 全层软骨缺损各2处, 用纤维蛋白黏合剂将自体骨膜及软骨膜游离移植于软骨缺损处, 通过光镜、电镜等方法进行动态观察。

结果表明自体骨膜及软骨膜移植具有诱导再生成熟关节软骨的能力。马树强等^[10]采取游离骨-骨膜复合组织和软骨下钻孔治疗关节软骨缺损, 骨膜组织和红骨髓均能够再生为类透明软骨, 并可充填关节软骨的缺损区, 形成修复组织。因此, 虽然临床修复软骨缺损的方法众多, 但均有其各自的局限性, 如何能够从结构和功能两方面较好的修复缺损的软骨是目前学界关注的问题。

组织工程技术的兴起为解决关节软骨缺损修复提供了一种新型方法。组织工程化软骨修复是目前研究的热点且已逐步试用于临床, 多重复合的仿生支架和种子细胞因子组织工程化软骨的研究重点, 应用于组织工程化软骨的种子细胞包括软骨细胞、骨髓间充质干细胞、胚胎干细胞和通过基因工程得到的种子细胞^[11-12]。目前应用最多、应用前景最好的是骨髓间充质干细胞。生物支架经历了一个漫长的过程, 趋向于复合性和功能性的方向发展, 组织工程软骨的设计原则之一是尽可能地模拟天然人工细胞外基质的精细结构及成分^[13-14]。因此, 支架的构建材料及制备方法的选择显得尤其重要。目前, 可用于组织工程支架构建的材料主要包括人工合成的高分子聚合材料和天然来源的生物大分子蛋白^[15]。前者尽管具有良好的可塑性、可控的降解速率和优良的机械性能, 但往往缺乏生物模拟信号和细胞亲和性; 天然来源的生物材料则具有良好的生物相容性和亲水性, 是构建组织工程支架的理想材料之一。文章就目前用于关节软骨缺损修复的软骨组织工程支架材料进行综述。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 由第一作者在CNKI、PUBMED和万方数据库检索1991至2015年有关组织工程支架材料修复关节软骨缺损的相关中文和英文文献。检索词: 关节软骨缺损, 支架材料, 组织工程软骨, cartilage defect; scaffold. tissue engineered cartilage。

1.2 资料筛选及评价

纳入标准: 用于软骨缺损修复相关材料的研究文献, 细胞因子和支架材料构建组织工程软骨的相关文献。

排除标准: 重复文献, 与上述研究无关的文献, 结局观察指标不同的文献。

疗效判定指标/结局(测量)指标: 共检索到文献215篇, 中文125篇, 英文90篇, 根据纳入和排除标准,

初步阅读文题和摘要, 排除重复文献和与主题无关的文献, 最终纳入48篇。

1.3 资料提取与文献质量评价 纳入的48篇文章中, 15篇文献探讨了关节软骨缺损修复和生物支架材料应用的现状; 15篇文献探讨了天然生物材料胶原、纤维蛋白、丝素蛋白、壳聚糖等在关节软骨缺损修复及构建组织工程软骨中的应用; 14篇文献探讨了高分子支架材料聚L-乳酸、聚乙醇酸、聚乳酸-DL-羟基乙酸共聚物等复合支架材料在关节软骨缺损修复及构建组织工程软骨中的应用; 4篇文献探讨了促进关节软骨缺损再生的其他因素及未来研究重点。

2 结果 Results

2.1 用于关节软骨缺损修复的软骨组织工程天然生物材料 关节软骨一旦受到损伤或者发生变性, 便无法恢复为原来的玻璃软骨状态, 随着时间的推移周围及对面的软骨也会发生变性。用组织工程学技术修复关节软骨缺损具有广阔的临床应用前景。近年来, 将细胞生物学技术与材料工程技术相结合, 寻找合适的新型支架材料以及优化种子细胞复合体外培养已是软骨工程学的研究热点^[16]。骨髓间充质干细胞的可获得性、可扩增性及可多向分化性展示了其良好的研究与应用前景, 骨髓间充质干细胞有分化形成软骨的特性。现已知骨髓间充质干细胞在损伤部位具有归巢特性并且分化为特定的细胞或者是分泌一系列具有促进再生功能的活性因子, 因此, 骨髓间充质干细胞在治疗应用中成为广泛的供体。在软骨缺损修复中有重要的临床应用价值。黎婷等^[17]观察兔骨髓间充质干细胞自体移植修复全层软骨缺损的实验效果, 以及明胶海绵作为载体的可行性, 认为骨髓间充质干细胞扩增并向成骨细胞定向诱导分化后, 以明胶海绵支架为载体移植修复骨缺损中, 能较好的修复骨组织缺损。同样陈克明等^[18]研究结果说明自体骨髓间充质干细胞与纤维蛋白复合物可用于修复关节软骨缺损, 但远期疗效尚需做进一步研究。将软骨诱导的骨髓间充质干细胞移植于软骨细胞外基质衍生的支架后, 细胞增殖率显著增高, 所构建的组织工程软骨组织工程软骨的压缩模量更高, 提高了组织工程软骨的生物力学性能^[19]。然而国外虽已研制出商品化人工软骨, 但新生软骨组织后期仍有退变现象。如何使生长因子持续高效发挥作用以使种子细胞获得良好的生物学活性、如何从整体上阻断各种炎性递质对关节软

骨的降解并抑制同种异体细胞移植的免疫排斥反应, 提高修复质量的远期疗效, 一直是关节软骨缺损修复组织工程学研究急待解决的关键问题。

研究开发软骨组织工程支架的材料和制备方法对今后软骨组织缺损修复具有重要的意义。组织工程支架按照性状可分为预成型支架材料及水凝胶材料两大类。胶原是一种天然生物学材料, 以胶原为基底制备的三维多孔支架, 选取微创、仿生并且可以原位塑形的胶原材料复合种子细胞修复关节软骨损伤, 在软骨组织工程化组织培养过程中发现不同类型的胶原材料影响软骨细胞的分化与表达, 胶原材料的来源、结构及性质的稳定性决定软骨组织工程研究的可靠性。为损伤关节软骨的修复带来了希望^[20]。有研究建立了以Ⅱ型胶原蛋白为材料的组织工程软骨支架制备技术^[21], 采用该技术制备的Ⅱ型胶原支架孔径为40-130 μm , 孔隙率约90%以上并且孔通率较好, 细胞材料共培养实验和兔背部皮下植入实验证实Ⅱ型胶原支架具有良好细胞相容性和组织相容性, Ⅰ型胶原支架与骨髓间充质干细胞相容性良好, 使用兔自体骨髓基质细胞作为移植细胞在体外大量繁殖扩增, 吸附于Ⅰ型胶原海绵上, 骨髓间充质干细胞-胶原复合移植可达到透明软骨样修复软骨缺损。但是胶原三维多孔支架存在机械性能差、供源不足、排异反应等一系列问题, 限制了其在软骨组织工程中的进一步应用。为改善这种状况, 可以通过交联、共混等方式提高支架机械性能, 结合细胞培养、负载生长因子等技术实现结构、功能高度仿生, 此外为避免动物源胶原的安全隐患问题, 使用重组胶原制备软骨替代物成为本领域的研究热点。以往研究发现通过制备肝素化胶原/壳聚糖支架来提高与转化生长因子 $\beta 1$ 的结合率, 将脂肪干细胞种植于该支架材料上后直接种植于体内, 可避免体外诱导过程, 缩短组织工程构建的时间。软骨细胞从天然软骨分离和体外增殖后, 将失去表达糖胺聚糖和Ⅱ型胶原蛋白的能力, 导致去分化, 减少细胞生存能力。将骨形态发生蛋白2与人缺端胶原支架复合, 并附加胰岛素和T3激素可促进组织工程软骨形成^[22], 见图1。

将异体软骨微粒脱细胞基质、纤维蛋白胶和软骨细胞注射到关节软骨缺损区, 结果构建的组织工程软骨修复效果良好, 细胞在构建的组织工程软骨内生长良好并分泌细胞外基质, 可用于修复关节软骨缺损^[23]。通过组织工程构建动员软骨细胞形成并修复软骨, 将

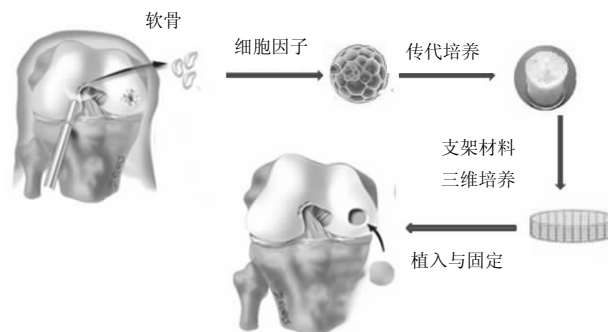


图1 软骨细胞、细胞因子和支架材料三维培养修复软骨缺损

新鲜的血纤维蛋白和富含血小板的血纤维蛋白与人骨髓源间充质干细胞结合, 纤维蛋白复合人骨髓源间充质干细胞构建的组织工程软骨, 软骨标志基因表达和累积更显著, 纤维蛋白可作为构建组织工程软骨的材料^[24]。

丝素蛋白是一种较佳的天然生物材料, 安全无毒、无刺激性, 且具有独特的机械性能和良好的生物学活性, 不但可以单独用于组织工程支架的构建, 还可与其他生物材料联用构建各种支架, 广泛应用于软骨组织工程领域。陆史俊等^[25]综合分析结果证实以上观点, 丝素蛋白可被加工成水凝胶、薄膜、纳米纤维、三维多孔支架等多种不同形态, 具有生物相容性好、生物降解慢、降解产物无毒、机械强度高等优点。同时, 可以通过种植干细胞、适当的化学修饰以及负载生长因子、无机物等。范志海等^[26]认为与纯丝素蛋白支架相比, 丝素蛋白/透明质酸复合多孔支架具有更好的多孔三维结构。此外, 支架制备过程中不含有毒溶剂, 支持骨髓间充质干细胞的黏附铺展与增殖。说明实验制备的丝素蛋白/透明质酸复合支架的成孔性好, 具有良好的细胞生物相容性。然而丝素蛋白作为一种常用的组织工程支架材料, 其降解性能一直不甚清楚, 从快速降解和酶降解的角度探究和分析了丝素蛋白的降解行为, 以及根据降解性能分析结果设计和改良了丝素蛋白材料, 并用于软组织的修复^[27]。发现经过脱胶及后期成型加工处理的丝素蛋白支架的降解速率偏慢, 在60 d的高温降解以及42 d的酶溶液水解后仍有大部分丝素蛋白支架稳定存在。

壳聚糖是甲壳素脱乙酰基的产物, 是第二大天然高分子, 由于其良好的生物相容性、生物可降解性和成型性, 作为软骨组织工程支架材料越来越受到重视。对壳聚糖为主的复合软骨组织工程支架的相关研究进行探讨。可以掌握其在不同的材料体系中的功

能作用,并可预见壳聚糖基生物材料在软骨组织工程中的发展潜力。徐敬等^[28]进一步研究表明,将壳聚糖与种子细胞进行共同体外培养可以获得正常形态的软骨细胞并能合成特异性的细胞外基质成分,在动物体内,壳聚糖支架与种子细胞所构建的组织工程软骨能够修复软骨损伤,形成与周围正常软骨相似的组织。史德海^[29]发现壳聚糖与Ⅱ型胶原两种材料充分溶解、混和后可以用冷冻干燥法制作成复合三维多孔支架。复合支架交联后吸水性能及力学强度均增强。壳聚糖与Ⅱ型胶原复合解决了单纯壳聚糖降解过慢、单纯Ⅱ型胶原降解过快的问题。将壳聚糖水凝胶与肋软骨细胞构建组织工程软骨用于修复关节软骨缺损,将构建的组织工程软骨移植到关节软骨缺损处。12周后软骨缺损得到修复,再生组织与软骨下骨和正常组织紧密相连,再生组织中软骨陷窝与组织相似,结果说明将骨细胞与壳聚糖水凝胶支架材料结合,可以促进期限增殖和分泌细胞外基质,构建的组织工程软骨可以完全修复关节软骨缺损^[30]。

2.2 高分子复合支架材料 天然生物材料生物相容性、细胞黏附性好,亲水性强,但力学强度差、吸收过快,而且难以大批量生产。人工合成高分子材料具有可控降解速度、力学强度好、易于塑形,但亲水性不够,对细胞的黏附性较弱以及有免疫反应、排斥反应等。因此,用于软骨组织工程的支架材料种类众多,结合不同材料特点制成合适的支架材料对软骨组织工程研究十分关键^[31]。关节软骨不自我修复,自体软骨细胞移植已用于关节软骨损伤的修复,但自体软骨细胞移植时细胞扩增,导致软骨细胞去分化,诱导Ⅰ型胶原,导致纤维变性,存在产生纤维软骨的危险。为了提高软骨细胞的增殖效率,有研究将软骨细胞与聚醚酯嵌段共聚物支架材料共培养,培养后可形成大量软骨组织,提高软骨细胞扩增率^[32]。将自体软骨细胞移植到可生物降解的聚L-乳酸或聚乳酸-DL-羟基乙酸共聚物支架材料上,移植1, 2, 6个月后聚L-乳酸支架材料构建的组织工程软骨有大量的软骨,但聚乳酸-DL-羟基乙酸共聚物支架材料不能生成软骨并修复软骨缺损,因为聚乳酸-DL-羟基乙酸共聚物降解速率较快,会在2个月月内完全降解,其降解物可以引起很严重的组织反应,所以聚L-乳酸有滞后降解性能,并可减少移植后组织炎性反应,适合用于软骨组织工程的构建^[33]。也有研究分别制备了静电聚D-L丙交酯/聚L-乳酸和聚D-L丙交酯/聚己内酯以研究其作为组织

工程软骨支架材料材料的可行性,结果显示以聚D-L丙交酯/聚己内酯为支架材料构建的组织工程软骨可使软骨细胞产生Ⅱ型胶原蛋白和蛋白聚糖(软骨细胞外基质的主要成分),可以修复软骨缺损,但静电聚D-L丙交酯/聚L-乳酸制备的组织工程软骨没有修复反应^[34]。将人软骨细胞种植到聚乙醇酸支架并于生物反应器培养5周,可以促进细胞外基质分泌^[35]。组织工程软骨目的在于构建具有与真实软骨类似的移植物,有研究将牛软骨细胞接种到聚氨酯支架并进行动态压缩,生物力学刺激可以促进细胞增殖并维护关节表面功能^[36]。多孔生物可降解聚合物支架与缺端胶原凝胶复合材料,将软骨细胞/缺端胶原混合物与聚L-乳酸复合或高分子材料(聚D-L丙交酯、PLA/CL和聚乳酸-DL-羟基乙酸共聚物)复合移植到损伤区域,结果以聚D-L丙交酯、PLA/CL构建的组织工程软骨产生大量的巨噬细胞堆积,从而使再生软骨发生退变,聚乳酸-DL-羟基乙酸共聚物和聚L-乳酸构建的组织工程软骨有助于软骨再生,并改善软骨质量^[37]。

复合支架无细胞毒性,在体外能够支持软骨细胞的生长、增殖,及维持软骨细胞的表型和功能。戴刚等^[38]研制的聚磷酸钙纤维/L-聚乳酸支架复合材料具有高孔隙度的三维立体结构,良好的抗压缩性能和生物降解性能,经进一步优化设计后,可成为结构和性能符合各项要求的新型软骨组织工程支架材料。有研究发现聚磷酸钙纤维,明胶复合材料的物理力学性能和降解性能基本满足软骨组织工程支架材料的要求,该复合材料有希望成为软骨组织工程支架材料之一。有人将磷酸三钙、聚磷酸钙纤维与聚乳酸材料复合后,发现磷酸三钙/聚磷酸钙纤维/聚乳酸支架材料具有三维、连通、微孔网状结构,孔隙率在70%-95%;孔隙率相近时,该支架材料的压缩模量比纯聚乳酸支架的压缩模量有了明显提高;磷酸三钙的加入使降解液pH值保持在6.0-7.0之间,避免了酸性降解产物引起的无菌性炎症反应,说明磷酸三钙/聚磷酸钙纤维/聚乳酸支架材料的物理力学性能和降解性能基本满足软骨组织工程的要求。有研究用电纺技术构建了Ⅱ型胶原和透明质酸复合三维纳米支架组织工程软骨,组织学和免疫组化染色结果表明,软骨细胞可以在Ⅱ型胶原和透明质酸复合三维纳米支架上生长,并分泌细胞外基质,并在培养2周后产生类似软骨陷窝结构,提示透明软骨形成。Ⅱ型胶原和透明质酸复合三维纳米支架有良好的物理化学性质和优良的生物相容性,

它可以用作组织工程软骨的支架材料^[39]。自体骨软骨骨镶嵌修复后软骨间空隙通长用靠纤维修复, 用聚乳酸-DL-羟基乙酸共聚物复合支架材料或骨髓单核细胞聚乳酸-DL-羟基乙酸共聚物复合支架材料均可以很好的修复软骨间空隙^[40]。

对细胞增殖有调节作用的细胞因子是软骨组织工程中很重要的一环。抗炎性细胞因子可以上调软骨细胞外基质, 各种生长因子在组织工程中必不可少, 细胞因子的作用并非单一作用, 而是存在于一个复杂的调节网络之中。转化生长因子、胰岛素样生长因子、骨形态发生蛋白等在软骨修复中发挥了重要的功能。而白细胞介素、肿瘤坏死因子 α 、白血病抑制因子、趋化因子等细胞因子对软骨细胞的作用多呈损伤性^[41]。多细胞生长因子作用于改良纤维蛋白胶软骨膜块中可明显促进组织工程软骨膜块构建以及关节软骨缺损的修复。经转化生长因子 $\beta 2$ 修饰的人脂肪源干细胞可以向软骨细胞分化, 并产生 II 型胶原蛋白, 与聚乳酸-DL-羟基乙酸共聚物支架材料共培养可以促进软骨细胞修复^[42]。石宗义^[43]研究证实, 实验各剂量转化生长因子 $\beta 1$ 都可以促进关节软骨全层缺损的修复, 100 ng 较理想, 最佳剂量和方法仍需探讨。有研究表明, 转化生长因子 $\beta 1$ 、软骨源性形态发生蛋白 1 都具有较强的修复软骨能力, 是修复关节软骨缺损的良好生长因子, 而软骨源性形态发生蛋白 1 较转化生长因子 $\beta 1$ 价格较低, 无骨软骨赘和正常关节软骨的退变, 在临床应用及基础研究更为理想。有研究探讨胰岛素样生长因子 1 和透明质酸联合培养对关节软骨细胞增殖及其生物学行为的影响^[44], 研究发现胰岛素样生长因子 1 能明显促进软骨细胞的增殖; 单纯应用透明质酸对软骨细胞的增殖无影响; 二者联合培养时其促增殖能力更强, 并且能有效地保持软骨细胞表型的稳定, 成纤维细胞生长因子 β 、转化生长因子 $\beta 1$ 和骨诱导形成蛋白 6 多种细胞生长因子联合构建改良纤维蛋白胶支架软骨膜块修复关节软骨缺损的作用。组织工程构建过程中机体对生物材料的免疫反应可能导致修复失败, 将软骨细胞与巨噬细胞共培养可以促进巨噬细胞游走抑制因子和 Fas 配体的表达, 所以生物材料与软骨细胞复合构建组织工程转骨可以调节宿主衍生的巨噬细胞表达, 从而调节炎症反应^[45]。

3 讨论 Discussion

关节软骨由于自身结构缺乏血运和经常受力的特

点, 关节软骨损伤后的修复非常有限, 关节软骨移植、软骨细胞移植、半月板移植及软骨膜移植在骨缺损修复中广泛应用, 骨软骨移植虽被认为是有效的治疗方法, 但也伴随诸多缺点, 其中包括供区不健全、组织供应局限、不适应的力学特点以及获得的组织分类不清等, 其临床应用受到限制^[1]。组织工程技术已经成为关节软骨缺损修复的研究热点, 在修复关节软骨缺损的研究中, 已经取得了很多成果。软骨组织工程支架材料中天然高分子材料、人工合成高分子材料和复合材料, 均有独特的理化性质, 将这不同材料的优点整合, 获得综合性能优异的软骨再生材料, 结合不同材料特点制成合适的支架材料对软骨组织工程研究十分关键。外源性刺激可以用于软骨组织工程, 促进软骨细胞分化和细胞外基质的分泌, 将人脂肪来源的干细胞接种在明胶/聚己内酯的支架用于关节缺损动物模型, 并经高压氧处理, 结果细胞外基质合成增加, 提高了组织工程软骨的质量^[46]。不同强度的压缩应力刺激对组织工程软骨细胞的增殖, 人胚胎软骨细胞接种到 II 型胶原海绵支架。接受频率 0.1 Hz, 压缩率 0-5%, 0-10% 和 0-20% 的刺激, 结果显示 0-10% 的刺激组织软骨细胞较多, 厚度为正常形态, 并有细胞外基质分析, 软骨细胞的增殖受循环应力强度的调节, 频率 0.1 Hz, 压缩率 0-10% 可以很好的促进细胞增殖^[47]。也有研究表示机械强度越大(20%), 可以提高培养的组织工程软骨的机械性能^[48]。在正常情况下, 软骨细胞外基质的分解和合成代谢是通过分解性细胞因子和合成性细胞因子平衡来维持的。促进软骨细胞外基质形成的细胞因子包括白细胞介素、肿瘤坏死因子、各种生长因子如胰岛素样生长因子、表皮生长因子等; 抑制软骨细胞外基质形成的细胞因子包括干扰素、维生素 E 及白细胞介素 10 等。未来的研究将结合细胞、基质、生长因子、生物材料等多种因素, 提高关节软骨缺损的修复质量, 多重复合的仿生支架和携带细胞因子仍是今后的研究重点。

作者贡献: 方洪松和周建林构思并设计综述, 彭昊、邓爽、翁金清、刘丰、陈森、周观金分析并解析数据, 方洪松起草, 周建林审校。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 无涉及伦理冲突的内容。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对于研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] Christensen BB, Foldager CB, Olesen ML, et al. Experimental articular cartilage repair in the Göttingen minipig: the influence of multiple defects per knee. *J Exp Orthop*. 2015;2(1):13.
- [2] de Windt TS, Vonk LA, Brittberg M, et al. Treatment and Prevention of (Early) Osteoarthritis Using Articular Cartilage Repair-Fact or Fiction? A Systematic Review. *Cartilage*. 2013;4(3 Suppl): 5S-12S.
- [3] Zhao M, Chen Z, Liu K, et al. Repair of articular cartilage defects in rabbits through tissue-engineered cartilage constructed with chitosan hydrogel and chondrocytes. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2015;16(11): 914-923.
- [4] Peretti GM, Pozzi A, Ballis R, et al. Current surgical options for articular cartilage repair. *Acta Neurochir Suppl*. 2011;108:213-219.
- [5] Chiang H, Liao CJ, Wang YH, et al. Comparison of articular cartilage repair by autologous chondrocytes with and without in vitro cultivation. *Tissue Eng Part C Methods*. 2010;16(2):291-300.
- [6] 杨方军, 张晓峰, 吴兴杰, 等. 自体软骨细胞移植修复关节软骨缺损[J]. 世界最新医学信息文摘, 2013, (34): 91-94.
- [7] 程聪, 任士友, 江小成, 等. 自体软骨细胞移植和微骨折术修复膝关节软骨缺损的Meta分析[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(24):3916-3923.
- [8] 崔春爱, 杨镇洙, 陈华勇. 自体骨膜移植修复关节软骨缺损的实验观察[J]. 延边大学医学学报, 2002, 25(1):8-11.
- [9] 王与荣, 张文明. 骨膜诱导再生关节软骨的组织学观察[J]. 中国修复重建外科杂志, 1991, 5(2):69-72.
- [10] 马树强, 姬海鹏, 王坤正, 等. 骨-骨膜复合组织与软骨下钻孔治疗关节软骨缺损的实验研究[J]. 陕西医学杂志, 2004, 33(5):390-392.
- [11] Guo X, Zheng Q, Yang S, et al. Repair of full-thickness articular cartilage defects by cultured mesenchymal stem cells transfected with the transforming growth factor beta1 gene. *Biomed Mater*. 2006;1(4):206-215.
- [12] Quintavalla J, Uziel-Fusi S, Yin J, et al. Fluorescently labeled mesenchymal stem cells (MSCs) maintain multilineage potential and can be detected following implantation into articular cartilage defects. *Biomaterials*. 2002;23(1):109-119.
- [13] Lin L, Zhou C, Wei X, et al. Articular cartilage repair using dedifferentiated articular chondrocytes and bone morphogenetic protein 4 in a rabbit model of articular cartilage defects. *Arthritis Rheum*. 2008;58(4):1067-1075.
- [14] Yun A, Lee SH, Kim J. A phase-field model for articular cartilage regeneration in degradable scaffolds. *Bull Math Biol*. 2013;75(12):2389-2409.
- [15] Scholten PM, Ng KW, Joh K, et al. A semi-degradable composite scaffold for articular cartilage defects. *J Biomed Mater Res A*. 2011;97(1):8-15.
- [16] Song HX, Li FB, Shen HL, et al. Repairing articular cartilage defects with tissue-engineering cartilage in rabbits. *Chin J Traumatol*. 2006;9(5):266-271.
- [17] 黎婷, 孙晋虎, 赵亮, 等. 骨髓间充质干细胞定向诱导分化成骨细胞移植修复腭裂骨缺损[J]. 口腔医学研究, 2011, 27(2): 113-115.
- [18] 陈克明, 葛宝丰, 刘兴炎, 等. 骨髓间充质干细胞复合纤维蛋白凝胶修复大面积关节软骨缺损[J]. 中国矫形外科杂志, 2004, 12(6):444-446.
- [19] Duan W, Da H, Wang W, et al. [Experimental study of tissue engineered cartilage construction using oriented scaffold combined with bone marrow mesenchymal stem cells in vivo]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2013;27(5):513-519.
- [20] Muhonen V, Saloniemi E, Haaparanta AM, et al. Articular cartilage repair with recombinant human type II collagen/poly(lactide) scaffold in a preliminary porcine study. *J Orthop Res*. 2015. doi: 10.1002/jor.23099.
- [21] 肖丹. I 型胶原海绵吸附自体骨髓基质细胞修复兔膝关节软骨缺损[D]. 中山医科大学, 2001.
- [22] Ko EC, Fujihara Y, Ogasawara T, et al. BMP-2 embedded atelocollagen scaffold for tissue-engineered cartilage cultured in the medium containing insulin and triiodothyronine—a new protocol for three-dimensional in vitro culture of human chondrocytes. *Tissue Eng Part C Methods*. 2012;18(5):374-386.
- [23] Lin PB, Ning LJ, Lian QZ, et al. A study on repair of porcine articular cartilage defects with tissue-engineered cartilage constructed in vivo by composite scaffold materials. *Ann Plast Surg*. 2010; 65(4):430-436.
- [24] Ahmed TA, Giulivi A, Griffith M, et al. Fibrin glues in combination with mesenchymal stem cells to develop a tissue-engineered cartilage substitute. *Tissue Eng Part A*. 2011;17(3-4):323-335.

- [25] 陆史俊,左保齐,刘洪臣.丝素蛋白生物支架材料在骨组织工程中的应用进展[J].中国修复重建外科杂志, 2014, 28(10):1307-1310.
- [26] 范志海,陆福男,张锋,等.丝素蛋白/透明质酸复合多孔支架材料的表征及细胞相容性[J].中国组织工程研究, 2012,16(29):5428-5432.
- [27] 熊思.丝素蛋白的降解性能及其三维打印生物活性支架在皮肤中的应用研究[D].浙江大学,2015.
- [28] 徐敬,赵建宁,徐海栋,等.壳聚糖及其衍生物在软骨组织工程中的应用[J].中国组织工程研究, 2015,19(25): 4081-4085.
- [29] 史德海.新型仿生软骨组织工程用壳聚糖/II型胶原支架的构建及实验研究[D].中山大学,2005.
- [30] Zhao M, Chen Z, Liu K, et al. Repair of articular cartilage defects in rabbits through tissue-engineered cartilage constructed with chitosan hydrogel and chondrocytes. J Zhejiang Univ Sci B. 2015;16(11): 914-923.
- [31] Chen R, Curran SJ, Curran JM, et al. The use of poly(L-lactide) and RGD modified microspheres as cell carriers in a flow intermittency bioreactor for tissue engineering cartilage.Biomaterials. 2006;27(25): 4453-4460.
- [32] Schuurman W, Harimulyo EB, Gawlitta D, et al. Three-dimensional assembly of tissue-engineered cartilage constructs results in cartilaginous tissue formation without retainment of zonal characteristics. J Tissue Eng Regen Med. 2013. doi: 10.1002/term.1726. [Epub ahead of print]
- [33] Asawa Y, Sakamoto T, Komura M, et al. Early stage foreign body reaction against biodegradable polymer scaffolds affects tissue regeneration during the autologous transplantation of tissue-engineered cartilage in the canine model. Cell Transplant. 2012; 21(7):1431-1442.
- [34] Wright LD, McKeon-Fischer KD, Cui Z, et al. PDLA/PLLA and PDLA/PCL nanofibers with a chitosan-based hydrogel in composite scaffolds for tissue engineered cartilage.J Tissue Eng Regen Med. 2014;8(12):946-954.
- [35] Shahin K, Doran PM. Strategies for enhancing the accumulation and retention of extracellular matrix in tissue-engineered cartilage cultured in bioreactors. PLoS One. 2011;6(8):e23119.
- [36] Grad S, Loparic M, Peter R, et al. Sliding motion modulates stiffness and friction coefficient at the surface of tissue engineered cartilage. Osteoarthritis Cartilage. 2012;20(4):288-295.
- [37] Tanaka Y, Yamaoka H, Nishizawa S, et al. The optimization of porous polymeric scaffolds for chondrocyte/atelocollagen based tissue-engineered cartilage. Biomaterials. 2010;31(16):4506-4516.
- [38] 戴刚,石宗利,李起鸿,等.新型骨与软骨组织工程支架材料制备及其性能研究[J].第三军医大学学报, 2002,24(5): 502-505
- [39] Yang Z, Chen Z, Liu K, et al. [Experimental study on tissue engineered cartilage complex three-dimensional nano-scaffold with collagen type II and hyaluronic acid in vitro]. Zhongguo Xue Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. 2013;27(10):1240-1245.
- [40] Zuo Q, Cui W, Liu F, et al. Utilizing tissue-engineered cartilage or BMNC-PLGA composites to fill empty spaces during autologous osteochondral mosaicplasty in porcine knees.J Tissue Eng Regen Med. 2016; 10(11): 916-926.
- [41] Madry H, Orth P, Kaul G, et al. Acceleration of articular cartilage repair by combined gene transfer of human insulin-like growth factor I and fibroblast growth factor-2 in vivo.Arch Orthop Trauma Surg. 2010; 130(10): 1311-1322.
- [42] Jin XB, Sun YS, Zhang K, et al. Tissue engineered cartilage from hTGF beta2 transduced human adipose derived stem cells seeded in PLGA/alginate compound in vitro and in vivo. J Biomed Mater Res A. 2008;86(4): 1077-1087.
- [43] 石宗义.转化生长因子 β 1促进关节软骨缺损修复的量效关系比较[J].山东医学高等专科学校学报,2006,28(4): 241-243.
- [44] 黄建荣.转IGF-I基因软骨细胞移植治疗关节软骨缺损的实验研究[D].中山大学,2003.
- [45] Fujihara Y, Takato T, Hoshi K. Immunological response to tissue-engineered cartilage derived from auricular chondrocytes and a PLLA scaffold in transgenic mice. Biomaterials. 2010;31(6):1227-1234.
- [46] Dai NT, Fan GY, Liou NH, et al. Histochemical and functional improvement of adipose-derived stem cell-based tissue-engineered cartilage by hyperbaric oxygen/air treatment in a rabbit articular defect model. Ann Plast Surg. 2015;74 Suppl 2:S139-145.
- [47] Li DW, Zhou Q, Guo P, et al. [Proliferation of tissue-engineered cartilage cells under compressive stress]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao. 2010;30 (11):2530-2532.
- [48] Hoenig E, Winkler T, Mielke G, et al. High amplitude direct compressive strain enhances mechanical properties of scaffold-free tissue-engineered cartilage. Tissue Eng Part A. 2011;17(9-10):1401-1411.