

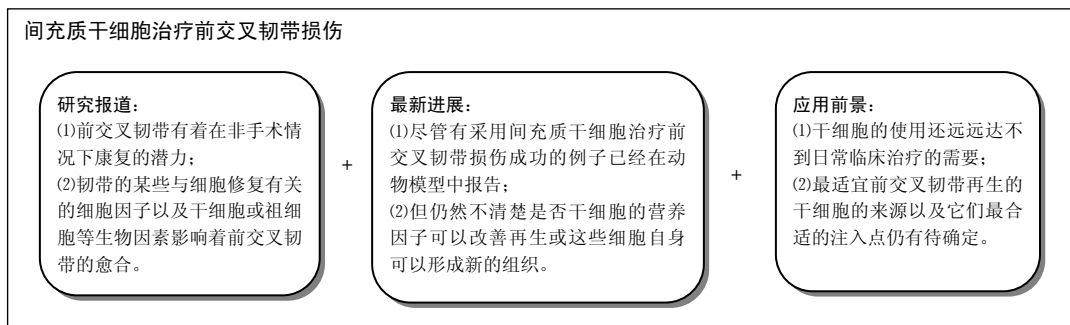
## 前交叉韧带损伤与干细胞的治疗

赵亮<sup>1</sup>, 韩长旭<sup>2</sup>, 任逸众<sup>2</sup>(<sup>1</sup>内蒙古医科大学, 内蒙古自治区呼和浩特市 010030; <sup>2</sup>内蒙古医科大学第二附属医院, 内蒙古自治区呼和浩特市 010030)

引用本文: 赵亮, 韩长旭, 任逸众. 前交叉韧带损伤与干细胞的治疗[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(21):3420-3425.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2017.21.023 ORCID: 0000-0001-9357-2718(赵亮)

文章快速阅读:



赵亮, 男, 1991年生, 山西省原平市人, 汉族, 内蒙古医科大学在读硕士, 主要从事运动医学的研究。

通讯作者: 任逸众, 博士, 硕士生导师, 内蒙古医科大学第二附属医院, 内蒙古自治区呼和浩特市 010030

中图分类号:R318

文献标识码:B

文章编号:2095-4344

(2017)21-03420-06

稿件接受: 2017-02-19

文题释义:

**肌腱干细胞:** 肌腱细胞曾被认为是肌腱中唯一的细胞类型, 但近年来肌腱干细胞相继在人类、小鼠、大鼠以及兔的肌腱组织中被发现, 打破了这一观念。肌腱干细胞可通过自我更新维持代谢平衡。与其他成人干细胞一样, 肌腱干细胞也具有多向分化的潜能, 这意味着它不仅可以分化为肌腱细胞, 在一定的病理条件下还能转变为非肌腱细胞, 包括脂肪细胞、软骨细胞以及骨细胞。肌腱细胞与肌腱干细胞不同, 其属于特异性成熟细胞, 已不具备分化为其他类型细胞的能力, 也不能像肌腱干细胞那样表达干细胞相关基因, 如 Oct-4、SSEA-1/4 以及 nucleostemin。

**韧带:** 属于致密结缔组织, 主要可分为两类: 弹性结缔组织和胶原纤维彼此交织成的不规则的致密结缔组织。弹性组织(elastic tissue)是以弹性纤维为主的致密结缔组织。粗大的弹性纤维或平行排列成束, 如项韧带和黄韧带。韧带白色带状的结缔组织, 质坚韧, 有弹性, 能把骨骼连接在一起, 并能固定某些脏器如肝、脾、肾等的位置。韧带亦称铰合韧带(hinge ligament), 为软体动物斧足类的左右两个贝壳的连结构, 一般将位于壳顶后方外面的韧带称外韧带。

摘要

**背景:** 有研究报道, 前交叉韧带有着在非手术情况下康复的潜力, 韧带的某些与细胞修复有关的细胞因子以及干细胞或祖细胞等生物因素影响前交叉韧带的愈合。

**目的:** 综述间充质干细胞与前交叉韧带损伤治愈联系的相关文献, 了解最终分化为前交叉韧带的干细胞/祖细胞的潜力, 为利用间充质干细胞治疗前交叉韧带损伤提供依据。

**方法:** 第一作者检索 PubMed 数据库的相关文献。检索词为“ACL regeneration stem/progenitor cells mesenchymal stem cells”。查阅近年来相关文献, 包括综述、临床研究和基础研究, 最终纳入 45 文献。

**结果与结论:** 近年来, 对细胞治疗前交叉韧带损伤以及肌肉骨骼再生有了大量的研究, 但是干细胞的使用还远远达不到日常临床治疗的需要, 最适宜前交叉韧带再生的干细胞的来源以及它们最合适的注入点仍有待确定。尽管采用间充质干细胞治疗前交叉韧带损伤成功的例子已经在动物模型中报告, 但仍然不清楚是否干细胞的营养因子可以改善再生或这些细胞自身可以形成新的组织。

**关键词:**

干细胞; 骨髓干细胞; 骨髓间充质干细胞; 前十字韧带损伤; 细胞治疗

**主题词:**

干细胞; 间充质干细胞; 前交叉韧带; 软骨; 组织工程

Zhao Liang, Studying for master's degree, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010030, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Corresponding author: Ren Yi-zhong, M.D., Master's supervisor, the Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010030, Inner Mongolia Autonomous Region, China

### Anterior cruciate ligament injury and stem cell therapy

Zhao Liang<sup>1</sup>, Han Chang-xu<sup>2</sup>, Ren Yi-zhong<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010030, Inner Mongolia Autonomous Region, China; <sup>2</sup>the Second Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010030, Inner Mongolia Autonomous Region, China)

**Abstract**

**BACKGROUND:** Anterior cruciate ligament (ACL) has been reported to hold a self-recovery potential, which may be related to certain cytokines and biological factors, such as stem cells or progenitor cells.

**OBJECTIVE:** To review the literatures about the relationship between mesenchymal stem cells and ACL injuries, and understand the potential of stem cells or progenitor cells differentiating into ACL, thus providing a basis for the clinical use of mesenchymal stem cells in the treatment of ACL injury.

**METHODS:** A computer-based online research of PubMed databases was performed to collect articles including reviews, clinical trials and basic studies using the English keywords of "ACL regeneration, stem/progenitor cells, mesenchymal stem cells". Forty-five eligible articles were included finally.

**RESULTS AND CONCLUSION:** In recent years, there are a lot of studies addressing the treatment of ACL injuries and muscle/bone regeneration, but the use of stem cells is still far from the clinical requirements. The source of stem cells suitable for the ACL regeneration and their most suitable injection points are under discussion. Although the mesenchymal stem cells have been reported to successfully repair ACL injury in animal models, either trophic factors of stem cells or these cells themselves improving the regeneration remains unclear.

**Subject headings:** Stem Cells; Mesenchymal Stem Cells; Anterior Crucial Ligament; Cartilage; Tissue Engineering

**Cite this article:** Zhao L, Han CX, Ren YZ. Anterior cruciate ligament injury and stem cell therapy. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2017;21(21):3420-3425.

## 0 引言 Introduction

前交叉韧带位于膝关节内, 连接股骨与胫骨, 主要作用是限制胫骨向前过度移位, 它与膝关节内其他结构共同作用, 来维持膝关节的稳定性, 使人体能完成各种复杂和高难度的下肢动作。在骨科手术中肌腱和韧带的损伤是较常见的问题, 特别在运动员中, 这种损伤通常发生在其快速变向、减速或落地时。前交叉韧带断裂是发生率较高且严重的运动损伤, 国外有学者统计前交叉韧带损伤在一般人群中的发病率为8.1/100 000<sup>[1]</sup>。青少年前交叉韧带损伤的发病率呈逐年升高的趋势, 其中女性青少年的发病率高于男性, 研究者提出性激素受体的作用可能与这种现象有关, 但尚未阐明雌激素导致前交叉韧带力学特性改变的具体机制<sup>[2]</sup>。

前交叉韧带损伤的诊断, 主要依靠运动损伤病史、体格检查、影像学检查等几个方面。运动损伤病史为前交叉韧带损伤的诊断提供了重要线索。体格检查主要依靠Lachman试验、轴移试验、前抽屉试验、Slocum试验和KT-1000、KT-2000等关节测量仪作出诊断, 近年来, 杠杆试验的报道也为诊断前交叉韧带损伤, 也提供了新的思路。影像学检查主要依靠核磁共振系统, 常规X射线片作为一种辅助检查手段。

目前治疗前交叉韧带断裂的金标准是采用自体或同种异体肌腱重建前交叉韧带。前交叉韧带重建术为超过90%的膝关节不稳定患者提供了一个令人满意的效果。而组织工程技术治疗前交叉韧带损伤是目前一种新兴治疗手段。与前交叉韧带移植重建替代物相关的组织工程研究仍处于初始阶段, 异种组织材料, 即生物型异种韧带是目前组织工程研究的新选择之一。间充质干细胞作为种子细胞, 具有取材方便、易于分离纯化和可在自我增殖同时保持多向分化潜能等特点, 新方法的出现不仅加速了韧带愈合或移植再造, 而且增加了患膝稳定度并改善了移植物的血供。组织工程韧带以材料学和生物化学为基础, 旨在通过细胞治疗方法促进前交叉韧带的再生修复, 使新生韧带组织达到与原前交叉韧带相似的机械强度与生化特性, 为治疗前交叉韧带损伤带来了

希望<sup>[3]</sup>。

## 1 资料和方法 Data and methods

**1.1 资料来源** 第一作者检索PubMed数据库的相关文献。检索词为“ACL, regeneration Stem/progenitor cells Mesenchymal stem cells”。查阅近年来相关文献, 包括综述、临床研究和基础研究, 最终纳入48篇文献。

**1.2 入选标准** 纳入标准: ①有关受损前交叉韧带愈合及治疗的文章; ②有关干细胞、间充质干细胞的文章; ③有关间充质干细胞治疗受损前交叉韧带损伤的文章; ④同一领域文献则选择近期发表或发表在权威杂志的文章。排除标准: ①重复性研究; ②非本主题相关研究。

**1.3 质量评估** 根据纳入和排除标准选取48篇文献进行综述, 符合纳入标准的文献中, 文献[1-16]是有关受损前交叉韧带愈合及治疗的文章, 文献[17-32]有有关干细胞、间充质干细胞的文章, 文献[33-45]探讨了有关间充质干细胞治疗前交叉韧带损伤的文章。文献检索流程图见图1。

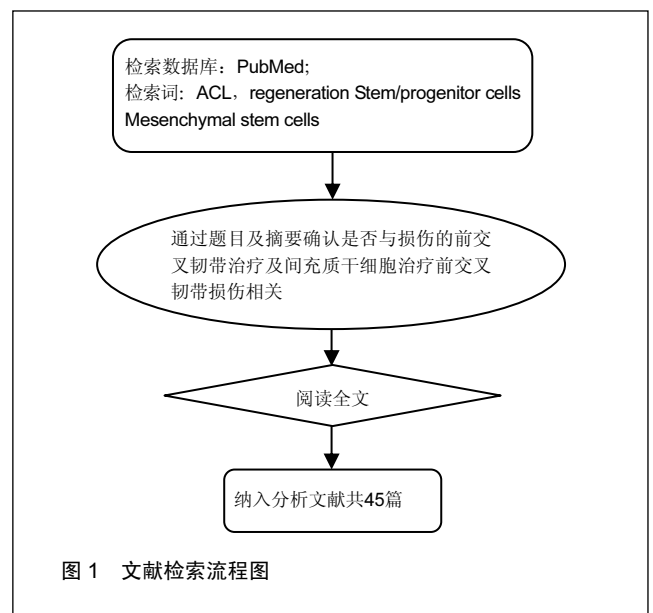


图1 文献检索流程图

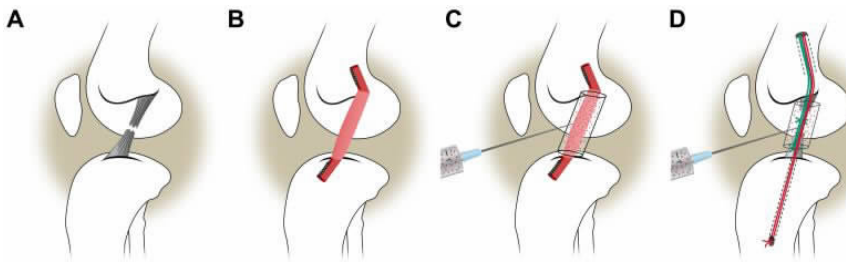


图2 前交叉韧带断裂不同治疗方法模式图<sup>[3]</sup>

图注: A 为前交叉韧带断裂; B 为传统前交叉韧带重建; C 为生物强化前交叉韧带重建; D 为生物强化前交叉韧带修复。

## 2 结果 Results

### 2.1 受损前交叉韧带的愈合及治疗

2.1.1 影响前交叉韧带愈合过程的因素 肌腱和韧带的愈合过程发生缓慢,可分为3个阶段:①组织炎症期;②血管长入与细胞增生期;③韧带重建期。各阶段间无明显组织学与时间界限,约在第8周起,纤维瘢痕开始形成<sup>[4]</sup>。前交叉韧带再生的一个困难是其损伤或断裂后无法引起血小板聚集,从而不能激活凝血系统,因此难以自愈,这一点对第一阶段至关重要<sup>[5]</sup>。在受损前交叉韧带的愈合过程中,关节内环境发挥着至关重要的作用。

因此,在韧带受损后,研究滑膜液的组成对分析影响韧带愈合的因素至关重要。在前交叉韧带断裂患者的滑膜液中,可以观察到基质金属蛋白酶3、白细胞介素6、组织金属蛋白酶抑制剂1的增多<sup>[6-7]</sup>。基质金属蛋白酶和组织金属蛋白酶抑制剂是组织重塑过程中重要的酶。基质金属蛋白酶/组织金属蛋白酶抑制剂比值较高的膝关节更易发生软骨破坏<sup>[6]</sup>。这种不平衡也可能会对前交叉韧带的愈合产生影响。Tang等<sup>[8]</sup>认为基质金属蛋白酶在关节内的积累是前交叉韧带修复减弱的原因。Higuchi等<sup>[6]</sup>的研究表明在前交叉韧带伤后的一段时间内,基质金属蛋白酶3浓度依然很高,然而组织金属蛋白酶抑制剂1浓度却下降。因此认为,前交叉韧带受伤后,治疗时机的选择可能对愈合产生一定影响。

2.1.2 前交叉韧带损伤的治疗 目前前交叉韧带重建术的金标准是使用自体腓绳肌(半腱肌和股薄肌)或髌腱代替前交叉韧带。手术治疗特别适用于日常生活中膝盖承受高负荷运动的患者,尤其是经常做急停急起、快速变向的运动员患者。保守治疗包括矫形术、本体感觉训练,以及一些加强肌肉从而增加膝关节稳定性的训练。Lohmander等<sup>[9]</sup>在一项12年的随访中发现,在一组受伤的女性足球运动员中,其中82%患者的膝关节有骨性关节炎的影像学表现。成功地对受伤的运动员行前交叉韧带重建术,可以将创伤性骨关节炎进行有效的控制<sup>[10]</sup>。使用自体移植物重建前交叉韧带,存在来源限制、供区并发症等问题<sup>[11]</sup>。目前还没有由于移植物的差异而导致临床预后及稳定性差异的文献报道<sup>[12]</sup>。Frobell等<sup>[13]</sup>最近公布的一项前瞻性随机对照试验认为,经过5年随访研究,对于前交叉韧带断裂的患者,康复为主要治疗方式

的非手术治疗与手术治疗相比,两者在膝关节损伤和骨关节炎的评分中治疗效果相当。此外,Costa-Paz等<sup>[14]</sup>发现前交叉韧带也有自愈的可能。他们回顾性分析了14例患者,均被建议手术,但因为种种原因未完成手术。这些患者均复查了MRI,显示断端有愈合以及轴移试验为阴性,这表明前交叉韧带存在自发愈合的可能性。2006年Steadman等<sup>[15]</sup>发表了促进骨骼未成熟运动员前交叉韧带损伤愈合的新方法。所谓的“愈合反应技术”(HRT)是前交叉韧带微裂隙旁的股骨,可在血液凝块的帮助下在促进前交叉韧带断端附着。他们还报导了此技术在一组超过40岁的全前交叉韧带断裂患者中是有效的<sup>[16]</sup>。前交叉韧带断裂不同治疗方法模式图见图2。

### 2.2 干细胞及间充质干细胞

2.2.1 干细胞、间充质干细胞的概述 “干细胞”包括了胚胎干细胞和成体干细胞,胚胎干细胞来源于囊胚内细胞团,其特点是多潜能性和无限复制能力<sup>[17-18]</sup>。在骨科研究中,胎儿衍生的胚胎样干细胞已被成功用于在马匹模型中屈肌腱的再生<sup>[19]</sup>。但是,干细胞在应用于人类治疗时,由于胚胎干细胞在医学治疗中所涉及的伦理问题以及可能产生的不良后果,我们对其的使用仍采取谨慎的态度<sup>[20]</sup>。

间充质干细胞是来源于中胚层的一类多潜能干细胞,其主要存在于结缔组织与器官间质中,如骨髓、脂肪、羊膜组织、脐带、外周血等。间充质干细胞具有强大的增殖能力、多向分化潜能和免疫调节功能,在适宜的体内或体外环境下可以向成骨细胞、成软骨细胞、肌腱、脂肪细胞、骨髓基质细胞、血管内皮细胞及神经细胞样细胞分化,并且多次传代扩增后仍具有干细胞特性,是重要的组织工程种子细胞<sup>[21]</sup>。国际细胞治疗学会以特定标准定义间充质干细胞:1间充质干细胞贴壁,2细胞表面抗原表达CD73、CD90和CD105,3细胞表面抗原不表达CD11b、CD14、CD19或CD79alpha、CD34、CD45,HLA-DR为标志的造血细胞的表达,4具备向脂肪细胞、成骨细胞和软骨细胞分化的潜能。间充质干细胞细胞表面抗原表达了CD13、CD29、CD44、CD90、CD105<sup>[22]</sup>。

2.2.2 肌腱和韧带来源的干细胞和祖细胞 2003年,Salingcamboriboon等第1次从小鼠肌腱中分离出了多能干细胞;这些细胞与骨髓间充质干细胞有相似之处,例如

它们可以分化成为脂肪细胞、成骨细胞和软骨细胞<sup>[23]</sup>。Bi等<sup>[24]</sup>进一步研究了这些细胞的特点,并确定了细胞外基质在维持肌腱干细胞小环境中发挥了关键作用。Cheng等<sup>[25]</sup>在人类前交叉韧带标记了类似的细胞类型,并发现这些细胞与骨髓间充质干细胞相比,具有较高的增殖率以及体外形成骨细胞分化的能力。Matsumoto等<sup>[26]</sup>从前交叉韧带的多系分化潜能细胞中分离出了表面抗原表达为CD44、CD73、CD90和CD146的间充质干细胞。此外,他们发现了胎儿前交叉韧带两束之间(前内侧和后外侧束)的隔膜中包含了CD34、CD146和 $\alpha$ -SMA的阳性细胞。而在成人前交叉韧带的薄膜中仍然存在一个薄的毛细血管,这可能是韧带特异性干细胞的一个来源。

肌腱干细胞(TDSCs)的精确表型仍不清楚。一项研究发现,人类网上肌腱血管周细胞表达了标记有CD29、CD44、CD133、Mushashi-1, Nestin的干细胞以及肌腱相关标志如Scleraxis和Collagens表型1和3的细胞<sup>[27]</sup>。然而, Musashi 1和Nestin是与神经干细胞相关的蛋白。这些细胞是否和前交叉韧带衍生的干细胞有相同的类型还需要进一步的研究。直到现在,对肌腱干细胞在前交叉韧带损伤后的再生作用仍缺乏足够了解。Steinert等<sup>[28]</sup>在体外培养了特异性前交叉韧带细胞,发现从断裂的前交叉韧带衍生而来的细胞具有骨髓间充质干细胞的特点。并且证实了前交叉韧带衍生和骨髓分化而来的细胞在标志物表达方面存在区别,并进一步得出结论,这些细胞可能有再生为韧带组织的潜力。在使用肌腱干细胞治疗结缔组织生长因子和抗坏血酸处理过的大鼠前交叉韧带模型中, Lui等<sup>[29]</sup>发现肌腱干细胞有利于早期移植物的愈合,并且发现肌腱干细胞组的抗牵拉力和刚度在矿化组织形成的骨隧道中都较强。

由于不同的解剖特点,肌腱和韧带在形态和生化表型上均存在差异。正常前交叉韧带组织学形态为呈束状的致密胶原结缔组织,表面有滑膜组织覆盖。纵切标本示纤维为小波状排列,顺纤维排列可见有成串状排列的细胞。韧带含有I型和III型胶原,III型胶原成分较其他肌腱或韧带多,韧带外面由结缔组织、血管和本体感觉神经共同形成外膜<sup>[30]</sup>。此外,其纤维分布也是不均匀的,甚至在关节内外的分布也存在差异。相比MCL细胞而言,前交叉韧带细胞含有更多的糖胺多糖,这可能是由于前交叉韧带丰富的滑膜液提供了糖胺多糖<sup>[31]</sup>。比起常用的自体半腱肌,前交叉韧带成纤维细胞的密度几乎高出了一倍,同时其血管化程度也较高<sup>[32]</sup>。

## 2.3 间充质干细胞对前交叉韧带损伤修复的研究

### 2.3.1 间充质干细胞治疗前交叉韧带损伤在动物模型中的研究

在一些动物研究中,间充质干细胞在关节内被注射,以观察其再生潜力。干细胞的治疗是否是一种可行的方式,仍是一个很有争议的问题。

Becerra等<sup>[33]</sup>通过不同途径将TC99m标记的间充质

干细胞注射入受伤的马匹来观察细胞的存活以及分布情况。24 h后肌腱中约有24%的标记细胞,且目前无不良反应报道。在大鼠和羊损伤的膝关节中植入细胞进行观察<sup>[32-33]</sup>, Agung等<sup>[34]</sup>发现在软骨、半月板和前交叉韧带内注射的间充质干细胞以剂量依赖的方式成活。Murphy等<sup>[35]</sup>发现,在骨模型中,植入物可以延缓半月板的损伤以及延缓软骨破坏,但对前交叉韧带并没有影响。Kanaya等<sup>[36]</sup>发现关节内注射间充质干细胞对大鼠局部撕裂的前交叉韧带组织的愈合产生了积极影响,且其生物力学特性得到了改善。但其并没有对注射之后细胞存活与否进行追踪。

有证据表明,系膜细胞大规模产生基质金属蛋白酶(-2, -3, -10, -11, -13)和组织金属蛋白酶抑制剂2,并在迁移、静止和机械负荷方面对基质金属蛋白酶环境产生了影响<sup>[37]</sup>。Xie等<sup>[38]</sup>在此前发表的论文中假定受伤的前交叉韧带关节内转化生长因子b1诱导基质金属蛋白酶量的高表达和LOXs量的低表达,相比于MCL来说,可能是MCL愈合能力强于前交叉韧带的原因。转化生长因子b1作为伤口愈合的化学介质,同时也诱导着基质金属蛋白酶以及LOXs的表达,LOXs在弹性蛋白和胶原蛋白的交联中起着重要的作用<sup>[39]</sup>。

除了关节内注射间充质干细胞,采用间充质干细胞缝合支撑架也是前交叉韧带修复的一个好的治疗方式。在兔的前交叉韧带断裂模型中采用间充质干细胞支持缝合的有1/3样品再生了胶原支架,而单独缝合的一组却失败。然而这个描述性研究, Figueroa等<sup>[40]</sup>未描述生物力学也未继续追踪细胞的存活情况。

### 2.3.2 干细胞在人前交叉韧带中的修复

Silva等<sup>[41]</sup>进行了一项前交叉韧带重建移植愈合的研究中发现,20例行前交叉韧带重建手术的患者接受了非培养的骨髓间充质干细胞浸润移植后, MRI结果显示治疗组与对照组无显著差异。股骨隧道经组织学检查后发现细胞与胶原蛋白含量以及血管无明显差异。由此推测,注射的干细胞可能由于数量太低因而未加速了前交叉韧带的愈合。

关节内注射间充质干细胞治疗骨性关节炎已经在少数患者中进行。这些临床试验的结果部分支持了动物研究中所描述的结果。此项治疗的目的是减少疼痛。此外MRI显示软骨质量有所改善并且软骨受损面积也有减小<sup>[42-43]</sup>。对于骨髓间充质干细胞治疗骨关节炎的研究,张平等<sup>[44]</sup>的研究指出目前治疗仍主要处于基础研究阶段,对于人体在体的实验依然比较少。骨髓间充质干细胞具有多向分化功能,如何调节骨髓中骨髓间充质干细胞定向分化的转录因子之间相互影响机制目前尚未完全明确,还有待于进一步研究。

### 2.3.3 安全性的研究

安全性是任何干细胞用于临床治疗的一个关键问题,因此肿瘤的发生和潜在有害异位

组织的形成需要在临床应用前认真权衡。Centeno等<sup>[45]</sup>随访了接受自体骨髓间充质干细胞治疗各种骨缺损的患者,从而进行了两组随访时间为3年的有关并发症的前瞻性研究,其中1组还接受了核磁共振成像结果显示在干细胞注射部位没有观察到肿瘤组织的形成。

### 3 结论 Conclusion

组织工程等学科的迅猛发展,使得间充质干细胞修复前交叉韧带的损伤成为了可能。近年来,对细胞治疗前交叉韧带损伤以及肌肉骨骼再生有了大量的研究,但是干细胞的使用还远远达不到日常临床治疗的需要。最适宜前交叉韧带再生的干细胞的来源以及它们最合适的注入点仍有待确定。尽管有采用间充质干细胞治疗前交叉韧带损伤成功的例子已经在动物模型中报告,但仍然不清楚是否干细胞的营养因子可以改善再生或这些细胞自身可以形成新的组织。在未来基础科学以及临床科学的研究中,干细胞治疗前交叉韧带损伤有着广阔的前景。

**作者贡献:** 第一作者、通讯作者构思设计本综述,第一作者完成对文献的检索、综述的撰写,通讯作者对综述进行修改和审核。

**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:** 文章的撰写与编辑修改后文章遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。

**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:** 文章第一作者对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。

**开放获取声明:** 这是一篇开放获取文章,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。根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享3.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途

### 4 参考文献 References

- [1] Clayton R, Court-Brown CM. The epidemiology of musculoskeletal tendinous and ligamentous injuries. *Inj Int J Care Inj*.2008;39:1338-1344.
- [2] Haaori K, Sano H, Komatsuda T, et al. Effect of estrogen on tissue elasticity of the ligament proper in rabbit anterior cruciate ligament: measurements using scanning acoustic microscopy. *J Orthop Sci*.2010;15(4):584-588.
- [3] Murray MM, Fleming BC. Use of a bioactive scaffold to stimulate anterior cruciate ligament healing also minimizes posttraumatic osteoarthritis after surgery. *Am J Sports Med*. 2013;41(8):1762-1770.
- [4] Sharma P, Maffulli N. Basic biology of tendon injury and healing. *Surgeon*. 2005;3(5):309-316.
- [5] Murray MM, Spindler KP, Ballard P, et al. Enhanced histologic repair in a central wound in the anterior cruciate ligament with a collagen-platelet-rich plasma scaffold. *J Orthop Res*.2007; 25(8):1007-1017.
- [6] Higuchi H, Shirakura K, Kimura M, et al. Changes in biochemical parameters after anterior cruciate ligament injury. *Int Orthop*.2006;1:43-47.
- [7] Lohmander LS, Hoerrner LA, Lark MW. Metalloproteinases, tissue inhibitor, and proteoglycan fragments in knee synovial fluid in human osteoarthritis. *Arthritis Rheum*.1993;36: 181-189.
- [8] Tang Z, Yang L, Wang Y, et al. Contributions of different intraarticular tissues to the acute phase elevation of synovial fluid MMP-2 following rat ACL rupture. *J Orthop Res*.2009;2: 243-248.
- [9] Lohmander LS, Ostenberg A, Englund M, et al. High prevalence of knee osteoarthritis, pain, and functional limitations in female soccer players twelve years after anterior cruciate ligament injury. *Arthritis Rheum*.2004;50:3145-3152.
- [10] Hoffelner T, Resch H, Forstner Michael M, et al. Arthroscopic all-inside meniscal repair—does the Meniscus heal? A clinical and radiological follow-up examination to verify meniscal healing using a 3-T MRI. *Skeletal Radiol*.2011; 40(2):181-187.
- [11] Mascarenhas R, MacDonald PB. Anterior cruciate ligament reconstruction: a look at prosthetics—past, present and possible future. *McGill J Med*. 2008;11(1):29-37.
- [12] Lide'n M, Ejerhed L, Sernert N, et al. Patellar tendon or semitendinosus tendon autografts for anterior cruciate ligament reconstruction: a prospective, randomized study with a 7-year follow-up. *Am J Sports Med*.2007;35:740-748.
- [13] Frobell RB, Roos HP, Roos EM, et al. Treatment for acute anterior cruciate ligament tear: five year outcome of randomised trial. *BMJ*.2013;346:232-244
- [14] Costa-Paz M, Ayerza MA, Tanoira I, et al. Spontaneous healing in complete ACL ruptures: a clinical and MRI study. *Clin Orthop Relat Res*.2012;470(4):979-985.
- [15] Steadman JR, Cameron-Donaldson ML, Briggs KK, et al. A minimally invasive technique (“healing response”) to treat proximal ACL injuries in skeletally immature athletes. *J Knee Surg*.2006;19(1):8-13.
- [16] Steadman JR, Matheny LM, Briggs KK, et al. Outcomes following healing response in older, active patients: a primary anterior cruciate ligament repair technique. *J Knee Surg*. 2012;25(3):255-260.
- [17] Burdon T, Smith A, Savatier P. Signalling, cell cycle and pluripotency in embryonic stem cells. *Trends Cell Biol*.2002; 12:432-438.
- [18] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*. 1998;5391:1145-1147.
- [19] Watts AE, Yeager AE, Kopyov OV. Fetal derived embryonic-like stem cells improve healing in a large animal flexor tendonitis model. *Stem Cell Res Ther*.2011; 2(1):4.
- [20] Lodi D, Iannitti T, Palmieri B. Stem cells in clinical practice: applications and warnings. *J Exp Clin Cancer Res*.2011; 17(30):9.
- [21] Satija NK, Singh VK, Verma YK, et al. Mesenchymal stem cell-based therapy: a new paradigm in regenerative medicine. *J Cell Mol Med*.2009;13(11-12):4385-402.

- [22] 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;4:315-317.
- [23] Salinger R, Yoshitake H, Tsuji K, et al. Establishment of tendon-derived cell lines exhibiting pluripotent mesenchymal stem cell-like property. *Exp Cell Res*. 2003;287:289-300.
- [24] Bi Y, Ehrlich D, Kilts TM, et al. Identification of tendon stem/progenitor cells and the role of the extracellular matrix in their niche. *Nat Med*. 2007; 10:1219-1227.
- [25] Cheng MT, Liu CL, Chen TH, et al. Comparison of potentials between stem cells isolated from human anterior cruciate ligament and bone marrow for ligament tissue engineering. *Tissue Eng Part A*. 2010;16(7):2237-2253.
- [26] Matsumoto T, Ingham SM, Mifune Y, et al. Isolation and characterization of human anterior cruciate ligament-derived vascular stem cells. *Stem Cells Develop* 2012;6:859-872.
- [27] Tempfer H, Wagner A, Gehwolf R, et al. Perivascular cells of the supraspinatus tendon express both tendon- and stem cell related markers. *Histochem Cell Biol*. 2009; 131:733-741.
- [28] Steinert AF, Kunz M, Prager P, et al. Mesenchymal stem cell characteristics of human anterior cruciate ligament outgrowth cells. *Tissue Eng Part A* 2011;17:1375-1388.
- [29] Lui PP, Wong OT, Lee YW. Application of tendon-derived stem cell sheet for the promotion of graft healing in anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med*. 2014 Mar;42(3):681-689.
- [30] van Steensel CJ, Schreuder O, van den Bosch BF, et al. Failure of anterior cruciate-ligament reconstruction using tendon xenograft. *J Bone Joint Surg Am*. 1987;69(6): 860-864.
- [31] Rumian AP, Wallace AL, Birch HL. Tendons and ligaments are anatomically distinct but overlap in molecular and morphological features—a comparative study in an ovine model. *J Orthop Res*. 2007;25(4): 458-464.
- [32] Hadjicostas PT, Soucacos PN, Koleganova N, et al. Comparative and morphological analysis of commonly used autografts for anterior cruciate ligament reconstruction with the native ACL: an electron, microscopic and morphologic study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2008;16:1099-1107.
- [33] Becerra P, Valde's Va'zquez MA, Dudhia J, et al. Distribution of injected technetium(99m)-labeled mesenchymal stem cells in horses with naturally occurring tendinopathy. *J Orthop Res*. 2013;31(7):1096-1102.
- [34] Agung M, Ochi M, Yanada S, et al. Mobilization of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into the injured tissues after intraarticular injection and their contribution to tissue regeneration. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2006;14:1307-1314.
- [35] Murphy JM, Fink DJ, Hunziker EB, et al. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2003;48: 3464-3474.
- [36] Kanaya A, Deie M, Adachi N, et al. Intra-articular injection of mesenchymal stromal cells in partially torn anterior cruciate ligaments in a rat model. *Arthroscopy*. 2007;23:610-617.
- [37] Kasper G, Glaeser JD, Geissler S, et al. Matrix metalloproteinase activity is an essential link between mechanical stimulus and mesenchymal stem cell behavior. *Stem Cells*. 2007;25(8):1985-1994.
- [38] Xie J, Wang C, Huang DY, et al. TGF-beta1 induces the different expressions of lysyl oxidases and matrix metalloproteinases in anterior cruciate ligament and medial collateral ligament fibroblasts after mechanical injury. *J Biomech*. 2013; 46:890-898.
- [39] Smith-Mungo LI, Kagan HM. Lysyl oxidase: properties, regulation and multiple functions in biology. *Matrix Biol*. 1998; 16(7):387-398.
- [40] Figueroa D, Espinosa M, Calvo R, et al. (2013) Anterior cruciate ligament regeneration using mesenchymal stem cells and collagen type I scaffold in a rabbit model. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2014;22(5):1196-202.
- [41] Silva A, Sampaio R, Fernandes R, et al. Is there a role for adult non-cultivated bone marrow stem cells in ACL reconstruction? *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2014; 22(1):66-71.
- [42] Orozco L, Munar A, Soler R, et al. Treatment of knee osteoarthritis with autologous mesenchymal stem cells: a pilot study. *Transplantation*. 2013;12:1535-1541.
- [43] Davatchi F, Abdollahi BS, Mohyeddin M, et al. Mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. Preliminary report of four patients. *Int J Rheum Dis*. 2011; 14:211-215.
- [44] 张平平, 向川. 骨髓间充质干细胞治疗骨关节炎: 可能与未来[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(6):968-973.
- [45] Centeno CJ, Schultz JR, Cheever M, et al. Safety and complications reporting update on the re-implantation of cultured-expanded mesenchymal stem cells using autologous platelet lysate technique. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2011;6: 368-378.