

# 关节腔内注射滑膜源间充质干细胞 对膝关节软骨损伤的疗效

陈子秋<sup>1</sup>, 刘顺贵<sup>1</sup>, 刘义<sup>1</sup>, 龚泰芳<sup>2</sup>

1. 十堰市太和医院 湖北医药学院附属医院骨科 5 病区, 湖北 十堰 442000;

2. 十堰市太和医院 湖北医药学院附属医院骨关节科, 湖北 十堰 442000

**摘要:** **目的** 对比关节腔内注射脐带血间充质干细胞与滑膜源间充质干细胞治疗膝关节软骨损伤的疗效。**方法** 采用回顾性、随机抽样与对照研究方法,选择 2013 年 9 月至 2016 年 8 月诊治的 48 例膝关节软骨损伤患者作为研究对象,按照采取的不同治疗方法划分为对照组和观察组,各 24 例,对照组给予注射脐带血间充质干细胞治疗,观察组给予注射滑膜间充质干细胞治疗,观察两组临床疗效、膝关节 Lequesne 指数评分、疼痛评分及并发症情况。**结果** 治疗后 6 个月观察组和对照组的优良率分别是 95.8% 与 66.7%,观察组的优良率显著高于对照组( $P < 0.05$ )。治疗后观察组与对照组的 Lequesne 指数评分分别为(86.35 ± 11.34)分、(75.85 ± 10.74)分,显著高于治疗前的(56.25 ± 12.54)分(和(56.25 ± 9.11)分( $P$  均  $< 0.01$ ),且观察组治疗后评分高于对照组( $P < 0.01$ )。而且经过治疗,观察组视觉疼痛量表评分(VAS)也优于对照组[(2.11 ± 1.54)分 vs (3.61 ± 1.44)分, $P < 0.01$ ]。治疗后观察组的血栓栓塞、肺部感染、下肢肿胀等并发症发生率为 8.3%,对照组为 25.0%,观察组低于对照组,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** 相对于脐带血间充质干细胞,滑膜间充质干细胞在膝关节软骨损伤治疗中的应用能更好改善膝关节功能,缓解疼痛,安全性高。

**关键词:** 脐带血; 滑膜; 间充质干细胞; 膝关节; 软骨损伤

**中图分类号:** R 687.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2018)09-1232-04

## Effect of intra-articular injection of synovial-derived mesenchymal stem cells on knee cartilage injury

CHEN Zi-Qiu\*, LIU Shun-Gui, LIU Yi, GONG Tai-Fang

\*The Fifth Ward of Orthopedics Department, Taihe Hospital Affiliated to Hubei Medicine University, Shiyan, Hubei 442000, China

**Abstract: Objective** To compare the therapeutic effects of intra-articular injection of umbilical cord blood mesenchymal stem cells and of synovial-derived mesenchymal stem cells in treatment of articular cartilage injury of knee joint. **Methods** Using a retrospective, random sampling and control study method, 48 patients with knee articular cartilage injury from September 2013 to August 2016 were selected as the research objects. According to the different treatment methods, the patients were divided into the control group and the observation group ( $n = 24$ , each). The umbilical cord blood mesenchymal stem cell therapy was given in control group, and synovial mesenchymal stem cell therapy was given in observation group. The clinical efficacy, Lequesne index score of knee joint, visual analog scale (VAS) and complications were observed and compared between two groups. **Results** The excellent rate in observation group was significantly higher than that in control group 6 months after treatment (95.8% vs 66.7%,  $P < 0.05$ ). After treatment, the Lequesne index scores in observation group [(86.35 ± 11.34) points vs (56.25 ± 12.54) points] and in control group [(75.85 ± 10.74) points vs (56.25 ± 9.11) points] were significantly higher than those before treatment, and the score in observation group was significantly higher than that in control group (all  $P < 0.01$ ). After treatment, VAS score in observation group was significantly lower than that in control group [(2.11 ± 1.54) points vs (3.61 ± 1.44) points,  $P < 0.01$ ]. The incidence of complications such as thromboembolism, pulmonary infection and lower extremity swelling was 8.3% in observation group and 25.0% in control group, there was no statistical difference between two groups even though the incidence of complications was lower in observation group ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Compares with umbilical cord blood mesenchymal stem cells, synovial mesenchymal stem cells can improve the function of knee joint, relieve pain and have higher safety in

the treatment of knee joint cartilage injury.

**Key words:** Umbilical cord blood; Synovial membrane; Mesenchymal stem cells; Knee joint; Cartilage injury

关节软骨是高分化组织,主要包含 II 型胶原和聚集蛋白聚糖等。并且关节软骨结构复杂,无血管、淋巴组织及神经支配,导致损伤之后很难自我修复,受损的软骨会进一步退变,最终导致退行性关节炎<sup>[1-2]</sup>。膝关节软骨损伤是临床常见的一种慢性骨关节疾病,该疾病具有软骨破坏、变形等特征,致残率比较高<sup>[3-4]</sup>。目前临床上治疗膝关节软骨损伤的方法包括自体软骨移植、微骨折手术等,但是都很难恢复软骨功能,也不能愈合形成自然状态的软骨组织。随着组织工程技术的兴起与发展,经过体外诱导,间充质干细胞可以培养成为软骨,这是临床研究与基础研究的一大重点<sup>[5-6]</sup>。尽管间充质干细胞的来源比较广泛,但是最理想的软骨再生干细胞应当具有最大成软骨潜能并且软骨细胞至少能够快速分化等特点<sup>[7-9]</sup>。间充质干细胞包括脐带血间充质干细胞、骨髓间充质干细胞与滑膜源间充质干细胞等,其中滑膜源间充质干细胞比其他来源间充质干细胞有更强的成软骨作用,可能是关节软骨组织再生的最直接细

胞<sup>[10-11]</sup>,但是在临床上的应用效果还无相关报道。本文对比了关节腔内注射不同类型间充质干细胞对膝关节软骨疾病的治疗效果,为推广应用滑膜源间充质干细胞提供参考。现报道如下。

## 1 对象与方法

**1.1 研究对象** 采用回顾性、随机抽样与对照研究方法,于 2013 年 9 月至 2016 年 8 月选择在本院诊治的膝关节软骨损伤患者 48 例作为研究对象,纳入标准:单侧发病;具有间充质干细胞治疗指征;CT/MRI 检查显示为膝关节软骨损伤;临床资料详细;研究得到医院伦理委员会的批准;常规药物保守治疗无效;病程≤3 个月。排除标准:妊娠与哺乳期妇女;合并恶性肿瘤者;精神疾病患者。根据治疗方法的不同分为观察组与对照组各 24 例,两组患者的病程、性别、年龄、体重指数、Kellgren-Lawrence 分级、发病位置等对比无统计学差异( $P > 0.05$ )。见表 1。

表 1 两组一般资料对比

组别	例数	病程 (年, $\bar{x} \pm s$ )	男/女 (例)	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$ )	体质指数 ( $\text{kg}/\text{m}^2, \bar{x} \pm s$ )	Kellgren-Lawrence 分级 (例, I 级/II 级/III 级)	发病位置 (例, 左侧/右侧)
观察组	24	6.53 ± 2.19	10/14	68.23 ± 4.22	22.67 ± 2.15	10/8/6	13/11
对照组	24	6.34 ± 1.94	11/13	68.10 ± 5.62	22.19 ± 1.98	11/7/6	12/12
$t/\chi^2$ 值		0.194	0.067	0.184	0.442	0.089	0.071
$P$ 值		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

**1.2 治疗方法** 为对照组患者提供脐带血间充质干细胞的注射治疗,为观察组患者提供滑膜间充质干细胞的注射治疗。对照组中研究的脐带血来自于足月儿,一次采集 50 ~ 100 ml 脐带血。采用差异贴壁法结合区带离心法将有核细胞分离,干细胞鉴定阳性后进行冻存。观察组所用的滑膜为关节镜下获取滑膜组织,剪除脂肪和部分结缔组织,分离出平滑光亮的滑膜组织,消化分离培养,传至 3 代的间充质干细胞作为种子细胞。所有患者在间充质干细胞移植前 1 周关节腔注射 4 ml 解冻后激活的血小板裂解液,进行消毒,采用 5 ml 无菌注射器在关节腔抽取 3 ml 左右关节液,并连接装混匀间充质干细胞的针筒,将 3 ml 的间充质干细胞缓慢注入,完成后采用无菌纱布对针眼进行压迫。移植 1 周后再次注射 4 ml 解冻后激活的血小板裂解液。

**1.3 观察指标** (1)疗效标准:治疗后的 6 个月对疗效展开评定,优:患者膝关节不存在关节积液且无疼痛感;良:基本消除了关节积液与关节肿痛;可:患

者的膝关节肿痛得到改善,但是依然无法正常活动;差:未能到以上标准或者加重。(优 + 良)/组内例数 × 100.0% = 优良率。(2)膝关节 Lequesne 指数评分:在治疗前和治疗后分别开展膝关节 Lequesne 指数评分,对比膝关节在治疗前后的疾病活动与关节功能以及亚种程度。(3)疼痛评定:在治疗前后通过视觉疼痛量表评分(VAS)完成评定,疼痛程度与分数成正比,评分标准为 0 ~ 10 分。(4)并发症:记录与观察治疗后 6 个月出现的下肢肿胀、血栓栓塞等并发症。

**1.4 统计学方法** 采用 SPSS 22.00 软件进行统计学分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  来表示,采用两独立样本  $t$  检验及配对  $t$  检验;计数资料以例(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。检验水准  $\alpha = 0.05$ (双侧)。

## 2 结果

**2.1 两组优良率对比** 治疗 6 个月后,观察组患者的优良率为 95.8%,对照组患者为 66.7%,观察组优良率高于对照组( $P < 0.05$ )。见表 2。

2.2 Lequesne 指数评分对比 治疗后观察组与对照组的 Lequesne 指数评分分别为  $(86.35 \pm 11.34)$  分、 $(75.85 \pm 10.74)$  分,显著高于治疗前的  $(56.25 \pm 12.54)$  分和  $(56.25 \pm 9.11)$  分 ( $P < 0.01$ ),且观察组治疗后评分高于对照组 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

2.3 疼痛评分对比 在治疗后两组的 VAS 评分均比治疗前明显降低 ( $P < 0.01$ ),经过治疗后观察组评分优于对照组 ( $P < 0.01$ )。见表 3。

2.4 并发症情况对比 治疗后,观察组的血栓栓塞、

表 3 两组治疗前后膝关节 Lequesne 指数评分及 VAS 评分对比 (分,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	膝关节 Lequesne 指数评分				VAS 评分			
		治疗前	治疗后	t 值	P 值	治疗前	治疗后	t 值	P 值
观察组	24	56.25 ± 12.54	86.35 ± 11.34	8.145	<0.01	4.94 ± 2.61	2.11 ± 1.54	13.857	<0.01
对照组	24	56.25 ± 9.11	75.85 ± 10.74	3.984	<0.01	4.84 ± 2.53	3.61 ± 1.44	7.433	<0.01
t 值		0.000	4.144			0.195	6.444		
P 值		>0.05	<0.01			>0.05	<0.01		

表 4 两组治疗后并发症发生情况对比 例(%)

组别	例数	下肢肿胀	血栓栓塞	肺部感染	合计
观察组	24	1(4.2)	0	1(4.2)	2(8.3)
对照组	24	3(12.5)	1(4.2)	2(8.3)	6(25.0)
$\chi^2$ 值					1.350
P 值					0.245

### 3 讨论

膝关节软骨损伤是临床常见疑难病症之一,主要原因在于随着年龄的增加,软骨细胞密度明显降低,导致无法参与膝关节的创伤修复<sup>[12]</sup>。随着老年人口的增加与外伤因素的增加,目前膝关节软骨损伤的患病人群日渐增多,严重影响患者的身心健康。如今,在治疗膝关节软骨损伤时采用的方法主要有自体移植术、异体移植术等,虽然取得一定的效果,但也存在明显缺陷<sup>[13]</sup>。如手术治疗对患者有一定的创伤,术后恢复比较慢。膝关节软骨损伤是常见的一种慢性骨关节疾病,病理变化主要是关节软骨出现退行性改变,以及软骨下和关节边缘出现骨质增生,药物治疗方法的疗效有限,且不能阻止疾病的进展,患者可出现长期疼痛<sup>[14]</sup>。间充质干细胞可存在于脂肪组织、骨膜、滑膜、肌肉、血液、骨髓等全身各个组织中。现阶段,对组织损伤进行修复时,间充质干细胞是最佳种子细胞,当满足一定条件时,间充质干细胞可以分化为脂肪、肌肉、骨、软骨等组织<sup>[15-16]</sup>。有研究将 2% 高分子量透明质酸添加到体外培养,把间充质干细胞培养成软骨细胞,接着自体移植到膝关节的软骨损伤部位,产生透明的软骨样组织<sup>[17-18]</sup>。目前已经能从多种不同组织中分离纯化间充质干细胞,如脐带血、骨髓、滑膜等。在体外环境下可将间充质干细胞诱导出软骨细胞,其中 II 型胶原呈现阳性,并随着时

间不断增强,而 I 型胶原不表达<sup>[19-20]</sup>。肺部感染、下肢肿胀等并发症发生率为 8.3%,对照组为 25.0%,观察组低于对照组,但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 4。

表 2 两组疗效对比 (例)

组别	例数	优	良	可	差	优良率(%)
观察组	24	17	6	1	0	95.8
对照组	24	6	10	4	4	66.7
$\chi^2$ 值						4.923
P 值						0.027

间不断增强,而 I 型胶原不表达<sup>[19-20]</sup>。

本研究显示,治疗后观察组患者的优良率为 95.8%,对照组患者为 66.7%,观察组明显高于对照组;治疗后观察组与对照组的 Lequesne 指数评分分别为  $(86.35 \pm 11.34)$  分、 $(75.85 \pm 10.74)$  分,显著高于治疗前的  $(56.25 \pm 12.54)$  分和  $(56.25 \pm 9.11)$  分,且观察组治疗后评分高于对照组,表明滑膜间充质干细胞的应用能更加有效改善患者的膝关节功能。从机制上分析,关节软骨和滑膜是从同一前体细胞发育而来,滑膜来源的间充质干细胞有稳定的成软骨活性,有较高的成骨、成软骨、成脂特性,从而有利于改善患者的膝关节功能<sup>[21]</sup>。本研究显示治疗后两组的疼痛评分都比治疗前明显要低,而且观察组评分也优于对照组。从机制上分析,滑膜来源的间充质干细胞能够起到强大的免疫调节与抗炎作用,可以利用多种因子分泌、细胞之间相互作用,使内源性祖细胞得到激活,以及对关节的局部微环境加以调节,从而达到更加有效的缓解疼痛的作用。相关研究表明滑膜间充质干细胞在成软骨分化后有很强的合成分泌区蛋白的作用,可降低关节表面摩擦系数<sup>[22]</sup>。并且滑膜间充质干细胞可以逃避免疫系统的检测和消除,从而实现强大的免疫抑制和抗炎功能<sup>[23-24]</sup>。滑膜与脐带血间充质干细胞均有较高的成骨、成软骨、成脂特性,不同组织来源间充质干细胞的抗原表达基本相同<sup>[25-27]</sup>。本研究显示治疗后观察组的血栓栓塞、肺部感染、下肢肿胀等并发症发生率为 8.3%,对照组为 25.0%,表明滑膜间充质干细胞的应用也有很好的安全性。不过本研究由于条件所限,样本量较少,长期疗效及稳定性还需要进一步分析。

总之,相对于脐带血间充质干细胞,滑膜间充质

干细胞在膝关节软骨损伤治疗中的应用能更好改善膝关节功能,缓解疼痛,安全性高。

## 参考文献

- [1] Ou F, Su K, Sun J, et al. The lncRNA ZBED3-AS1 induces chondrogenesis of human synovial fluid mesenchymal stem cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 487(2): 457-463.
- [2] Burk J, Glauche SM, Brehm W, et al. Characterisation and intracellular labelling of mesenchymal stromal cells derived from synovial fluid of horses and sheep[J]. *Vet J*, 2017, 222: 1-8.
- [3] 杨程,倪江东,张寿,等. 自体骨髓间充质干细胞和同种异体软骨细胞共培养修复五指山小型猪膝关节软骨缺损的实验研究[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2017, 42(8): 919-926.
- [4] Vela FJ, Sánchez-Margallo FM, Blázquez R, et al. Evaluation of antigen-induced synovitis in a porcine model: Immunological, arthroscopic and kinetic studies[J]. *BMC Vet Res*, 2017, 13(1): 93.
- [5] 胡鑫,尹小朋,龚忠诚,等. 滑膜间充质干细胞与软骨细胞移植修复膝关节软骨缺损[J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(9): 1408-1413.
- [6] 周勇,贾兆锋,刘威,等. 聚乙烯醇/壳聚糖多孔水凝胶复合骨髓间充质干细胞修复膝关节软骨缺损[J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(18): 2881-2889.
- [7] Decker RS, Um HB, Dymont NA, et al. Cell origin, volume and arrangement are drivers of articular cartilage formation, morphogenesis and response to injury in mouse limbs[J]. *Dev Biol*, 2017, 426(1): 56-68.
- [8] 王奇,唐洪,曾伟南,等. 骨髓间充质干细胞复合仿生凝胶修复猪关节软骨缺损[J]. *中华创伤杂志*, 2017, 33(7): 658-664.
- [9] 王连,侯鹏,蒋涛,等. 不同来源间充质干细胞在膝关节软骨修复中的临床研究进展[J]. *中国骨伤*, 2017, 30(6): 581-586.
- [10] 刘贵艳,边森,李芳,等. 骨髓间充质干细胞移植对胶原诱导关节炎大鼠血清及关节滑膜中白细胞介素-22及基质金属蛋白酶-3表达的影响[J]. *中华医学杂志*, 2017, 97(9): 698-702.
- [11] Wijekoon HMS, Toyota K, Kim S, et al. Differentiation potential of synoviocytes derived from joints with cranial cruciate ligament rupture and medial patella luxation in dogs[J]. *Res Vet Sci*, 2017, 114: 370-377.
- [12] Shioda M, Muneta T, Tsuji K, et al. TNF $\alpha$  promotes proliferation of human synovial MSCs while maintaining chondrogenic potential[J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0177771.
- [13] 韩健,殷振华,李富航,等. 人自体脂肪间充质干细胞治疗骨关节炎的临床研究[J]. *实用骨科杂志*, 2017, 23(3): 235-239.
- [14] 侯立刚,张雁儒. 骨骼肌来源和骨骼肌筋膜来源的间充质干细胞成软骨差异的研究[J]. *中华实验外科杂志*, 2017, 34(5): 833-835.
- [15] Leijts MJ, van Buul GM, Verhaar JA, et al. Pre-Treatment of Human Mesenchymal Stem Cells With Inflammatory Factors or Hypoxia Does Not Influence Migration to Osteoarthritic Cartilage and Synovium[J]. *Am J Sports Med*, 2017, 45(5): 1151-1161.
- [16] Katagiri K, Matsukura Y, Muneta T, et al. Fibrous Synovium Releases Higher Numbers of Mesenchymal Stem Cells Than Adipose Synovium in a Suspended Synovium Culture Model[J]. *Arthroscopy*, 2017, 33(4): 800-810.
- [17] Fernandez-Pernas P, Rodríguez-Lesende I, de la Fuente A, et al. CD105 $^{+}$  mesenchymal stem cells migrate into osteoarthritis joint: An animal model[J]. *PLoS One*, 2017, 12(11): e0188072.
- [18] Reesink HL, Sutton RM, Shurer CR, et al. Galectin-1 and galectin-3 expression in equine mesenchymal stromal cells (MSCs), synovial fibroblasts and chondrocytes, and the effect of inflammation on MSC motility[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 243.
- [19] 卓群豪,张伟娜,李舰,等. 膝关节腔内注射 Sox9 转染骨髓间充质干细胞修复膝关节骨关节炎[J]. *中国组织工程研究*, 2017, 38(5): 736-741.
- [20] Zhu Y, Wang Y, Zhao B, et al. Comparison of exosomes secreted by induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells and synovial membrane-derived mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 64.
- [21] Joswig AJ, Mitchell A, Cummings KJ, et al. Repeated intra-articular injection of allogeneic mesenchymal stem cells causes an adverse response compared to autologous cells in the equine model[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 42.
- [22] 姜良斌,韦标方,冯志,等. 人脱细胞羊膜与骨髓间充质干细胞复合体修复关节软骨缺损[J]. *中国组织工程研究*, 2017, 21(26): 4113-4118.
- [23] Frederick ED, Hausburg MA, Thomas GW, et al. The low molecular weight fraction of human serum albumin upregulates COX2, prostaglandin E2, and prostaglandin D2 under inflammatory conditions in osteoarthritic knee synovial fibroblasts[J]. *Biochem Biophys Res*, 2016, 8: 68-74.
- [24] Huang YZ, Xie HQ, Silini A, et al. Mesenchymal Stem/Progenitor Cells Derived from Articular Cartilage, Synovial Membrane and Synovial Fluid for Cartilage Regeneration: Current Status and Future Perspectives[J]. *Stem Cell Rev*, 2017, 13(5): 575-586.
- [25] 杨孝兵,蒋峰,张帆,等. 脐带间充质干细胞治疗严重膝骨关节炎的对照研究[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2017, 22(3): 305-311.
- [26] Kohno Y, Mizuno M, Ozeki N, et al. Yields and chondrogenic potential of primary synovial mesenchymal stem cells are comparable between rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 115.
- [27] 杨若冰,廉秋芳,王显利,等. 脐带间充质干细胞移植对盐敏感性高血压大鼠心肌纤维化及细胞凋亡的影响[J]. *中国临床研究*, 2016, 29(11): 1441-1445.

收稿日期:2018-01-20 编辑:王娜娜