

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.12.045

自体软骨细胞移植技术治疗膝关节软骨缺损的研究进展*

王志学¹ 吕国枫¹ 丁勇^{2△} 李钊² 赵新文² 范少明² 韩康²

(1 大连医科大学运动医学基础教研室 辽宁 大连 116000; 2 第四军医大学唐都医院骨科 陕西 西安 710038)

摘要: 膝关节软骨缺损发病率高,且自身修复能力有限。治疗膝关节软骨缺损的传统方法包括钻孔术、微骨折术、自体骨软骨移植术。然而,钻孔术和微骨折术治疗后缺损区生成的是纤维软骨,而不是正常的透明软骨,两者在力学强度、硬度、耐磨损性等多方面存在很大差距。自体骨软骨移植术可生成正常的透明软骨,但存在供体有限、不适合进行大面积软骨缺损治疗等多方面缺点在临床方面应用受限。近年来,自体软骨细胞移植技术发展迅速,越来越多的病人接受此治疗方法并获得良好效果,引起人们广泛关注。本文根据近年来国内外的各项相关研究成果进行总结,阐述膝关节软骨缺损的各种治疗方法,着重介绍自体软骨细胞移植技术。第三代自体软骨细胞移植技术生成的软骨以透明软骨为主,符合关节生物力学要求,且避免了第一代、第二代自体软骨细胞移植的术后并发症,成为治疗膝关节大面积软骨缺损安全有效的治疗方法。另外,本文就软骨细胞支架材料的发展、移植术后的转归等问题提出进一步设想。

关键词: 膝关节; 软骨缺损; 自体软骨细胞移植; 临床效果

中图分类号: R684.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)12-2372-04

The Current of Treatment for Cartilage Defects in the Knee with Autologous Chondrocyte Implantation*

WANG Zhi-xue¹, LV Guo-feng¹, DING Yong^{2△}, LI Zhao², ZHAO Xin-wen², FAN Shao-ming², HAN Kang²

(1 Department of sport medicine, Da lian medical university, Dalian, Liaoning, 116000, China;

2 Department of orthopaedics, Tang du hospital of the fourth military medical university, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT: The cartilage defects in the knee has substantial morbidity and a limited capacity for self-repair. The traditional treatment for cartilage defects in the knee include:drilling,microfracture,mosaicplasty. After the drilling and microfracture, defect area generated is fibrocartilage, rather than the normal hyaline cartilage, mechanical strength, hardness, wear resistance between the two type there is a big gap in many aspects.The clinical application of mosaicplasty restricted by donor limited, not suitable for large cartilage defect treatment, although it can generate normal hyaline cartilage. In recent years, autologous chondrocyte implantation has developed rapidly, a growing number of patients receiving this treatment method and obtain good or excellent effect, caused widespread concern. This review summarized recent studies, introduce various treatment strategy especially for autologous chondrocyte implantation.The third generation of ACT generated cartilage is hyaline cartilage that conform to the requirements of the joint biomechanics, and avoid the postoperative complications created by first generation and second generation of ACT. ACT was a safe and effective treatment for large cartilage defect in knee joint. In addition, our review assumed new directions for further reaserch about cartilage scaffold materials and graft transformation postoperative.

Key words: Knee joint; Cartilage defects; Autologous chondrocyte implantation; Clinical outcome

Chinese Library Classification(CLC): R684.7 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2014)12-2372-04

前言

关节软骨组织主要由大量细胞外基质和包裹其中的软骨细胞组成,是一种没有血管、淋巴、神经的特殊结缔组织,其营养来源主要依赖于关节腔内滑液和软骨下骨的血供,自身修复能力有限,一旦损伤很难恢复。常引起关节疼痛、功能障碍等症

状,后期导致骨性关节炎,最终常需通过人工关节置换来进行治疗。此外,关节软骨缺损发病率高,对大量的病人尤其是青少年病人造成不可逆性的损害。

易守红等^[1]对 2479 例膝关节镜手术患者进行关节软骨损伤的流行病学调查显示关节软骨损伤者占 55.1%,30~59 岁为高发年龄段,关节软骨损伤病例中 I~IV 级者分别占

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81371926)

作者简介:王志学(1986-),男,硕士研究生,主要研究方向:运动损伤、关节外科。电话:13630212103, E-mail:13630212103@163.com

△ 通讯作者:丁勇(1966-),男,骨科主任医师、教授。电话:029-84717700, E-mail:dinyonza@fmmu.edu.cn;

审校:吕国枫(1954-)男 主任医师、教授。电话:0411-86110284, E-mail:gfl113@qq.com)

(收稿日期:2014-01-05 接受日期:2014-01-30)

27.45%、29.94%、14.71%、27.89%。北京大学第三医院运动医学研究所在对 528 例取自腘绳肌腱重建膝关节前交叉韧带的患者进行统计时发现,共有 265 处髌股关节软骨损伤,占有病例的 50.2%,据此推算,约有 4%~5% 的膝关节镜患者存在关节软骨Ⅳ度损伤,并需要进行软骨修复治疗^[2]。膝关节软骨损伤在一些特定人群如运动员中的发生率更高。

1 关节软骨缺损的传统治疗

针对关节软骨缺损的传统治疗方法有:钻孔术、微骨折术(Microfracture)、自体骨软骨移植术(Osteochondral autograft transfer, OAT)等。

钻孔术和微骨折术:钻孔术是指在软骨缺损区通过钻孔来刺激软骨下骨出血,形成纤维软骨修复组织。微骨折术是对钻孔术的进一步改良,通过专用器械造成骨缺损区上小下大的锥形孔,由此促进骨髓间充质干细胞的移出量明显多于钻孔术^[3]。但是,关节软骨缺损区经微骨折术和钻孔术治疗后再生的是纤维软骨而非正常的透明软骨,从硬度、生物力学、耐摩擦能力等多方面讲均无法与透明软骨相比,且存在后期退变的隐患。

自体骨软骨移植术:通过从膝关节非负重区取部分骨软骨移植修复缺损的方法。与之类似的是从非负重区取部分圆柱状骨软骨条栓置于缺损区预先处理的相应骨洞中,以达到修复缺损的目的,此类技术被称为马赛克技术(Mosaicplasty)。Maccacci 等^[4]对 30 例膝关节全层软骨缺损的患者行自体骨软骨移植治疗,软骨缺损面积小于 2.5 cm²,术后随访至少 7 年,结果显示:对于面积较小的软骨缺损,自体骨软骨移植术有较好的中、长期疗效。Lane JG 等^[5]研究认为:自体骨软骨移植对于面积小于 2 cm² 的软骨缺损的修复效果最佳,对于面积在 2~4 cm² 的软骨缺损也有很好的临床疗效。自体骨软骨移植术适用于局灶性软骨病损,不宜修复较大面积的缺损。而 Eric JS 等^[6]研究认为 OAT 和 Mosaicplasty 技术的适应症受到软骨缺损面积大小的限制,适用于 1~4 cm² 大小的软骨缺损。并观察到 OAT 和 Mosaicplasty 术后移植体边缘与缺损边缘形成的间隙常由纤维组织填充并持续存在,可能导致邻近的正常软骨组织因压力分布异常而最终形成退变。Horas 等^[7]同样认为 OAT 术后移植体与周围正常软骨存在间隙,OAT 技术适用于面积小于 4 cm² 的软骨缺损,而大于 4 cm² 的病人建议使用自体软骨细胞移植修复技术。另外,自体骨软骨移植的施行还要受到供体有限、供区缺损引起相应症状等诸多方面的限制。Bentley 等^[8]在 2003 年曾经对自体软骨细胞移植术(ACT)和 Mosaicplasty 技术进行了比较,对 100 例膝关节软骨缺损患者,平均面积 4.66 cm²。其中 58 例接受 ACT 治疗,42 例接受骨软骨移植治疗。88% 接受 ACT 治疗的患者获得好的效果,接受骨软骨移植治疗获得同样疗效的患者为 69%。1 年后关节镜检查示 82% 接受 ACT 治疗的患者修复很好,而骨软骨移植仅为 34%。

2 自体软骨细胞移植术

自体软骨细胞移植术(Autologous chondrocyte transplantation, ACT) 将取自关节非负重区的自体软骨体外进行分离培

养,并回植于缺损区进行局部软骨缺损修复。

ACT 技术的适应症:由创伤原因导致的关节软骨缺损而关节对线良好的年轻病人^[9]。要求膝关节稳定性和活动度良好,能够配合进行术后的功能康复锻炼。合并有膝关节韧带损伤、髌骨脱位等病人需先进行韧带重建或纠正下肢力线手术。另外,膝关节剥脱性骨软骨炎病人也适于通过 ACT 技术修复软骨缺损。

ACT 技术开展以来,经历了 3 次更新换代。第一代 ACT 技术也称 P-ACT 技术(Periosteal covered-Autologous chondrocyte transplantation),需取自体胫骨近端骨膜覆盖固定于关节表面缺损区,将含有自体软骨细胞的混悬液注入骨膜与缺损区的间隙,通过软骨细胞生长修复软骨缺损(图 1)。P-ACT 技术随着应用增多,渐渐显露出了很多缺点:细胞混悬液的渗漏、移植前软骨细胞去分化、软骨细胞在缺损区的不均匀分布^[10]等。而很多术后并发症的出现与应用自体骨膜覆盖存在很大关系:术后早期出现骨膜的分层;后期出现骨膜的增生肥大,甚至形成凸向关节腔的突起并引起临床症状,往往需二次手术切除;移植后的骨膜片可生成透明软骨样组织,但其生物力学性能、耐磨持久性不佳,易退变;骨膜供体的选择、缝合以及缺损位置、深度都对移植后的骨膜能否顺利生成软骨组织有一定影响,整个手术过程操作非常复杂,对外科医生手术技巧要求过高,从而阻碍了该技术的推广;有些患者的自体骨膜过于菲薄或者脆弱,容易破裂,影响手术效果。此外还有骨膜片脱落等诸多弊端。Rosenberger 等^[10]对 56 例年龄大于 45 岁的 P-ACT 术后病人进行平均 4.7 年的临床效果随访,优良率 72%。但是 43% 的病人(24 例)因骨膜增生和关节粘连再次进行手术治疗;Henderson 等^[11]对 170 例术后病人进行调查发现 74% 的病人 2 年内再次手术以解决骨膜增生问题,而且随访 4.5 年发现再次接受手术的病人关节功能评分明显差于未进行再次手术者。

第二代 ACT 技术使用胶原膜(通常是 I/III 型双层胶原膜)取代了骨膜片进行软骨细胞的封闭固定。术中,将胶原膜修整成与缺损处相匹配的尺寸大小,缝合固定后将带有软骨种子细胞的悬液注射于胶原膜下方。称为 C-ACT 技术(Collagen covered-Autologous chondrocyte transplantation)。胶原膜的应用大大简化了手术程序,缩短了手术时间,避免了因取自体骨膜而造成的切口,从而减低了术后并发症的发生。它的应用也避免了由骨膜片移植造成的分层和增生肥大等问题。Haddo 等^[12]认为:应用胶原膜修复关节软骨缺损可获得满意的效果,相对于骨膜片的移植而言,移植术后 1 年进行关节镜检查,移植区尚未出现增生肥大迹象。在一项 P-ACT 和 C-ACT 的对比研究^[13]中,C-ACT 术后 74% 的病人效果良好,而 P-ACT 术后达到同样效果的病人为 63%,且 36% 的病人再次手术切除增生的骨膜,而 C-ACT 组则无一例再次手术。

第三代 ACT 技术:以生物材料为软骨种子细胞载体是其主要特点,其中以基质诱导的自体软骨细胞移植(Matrix-induced Autologous Chondrocyte Transplantation, MACT)为代表。大概步骤是软骨缺损区清创后,将载有软骨种子细胞的生物可降解 3D 材料支架修整成匹配缺损区的大小和形状,覆盖创面

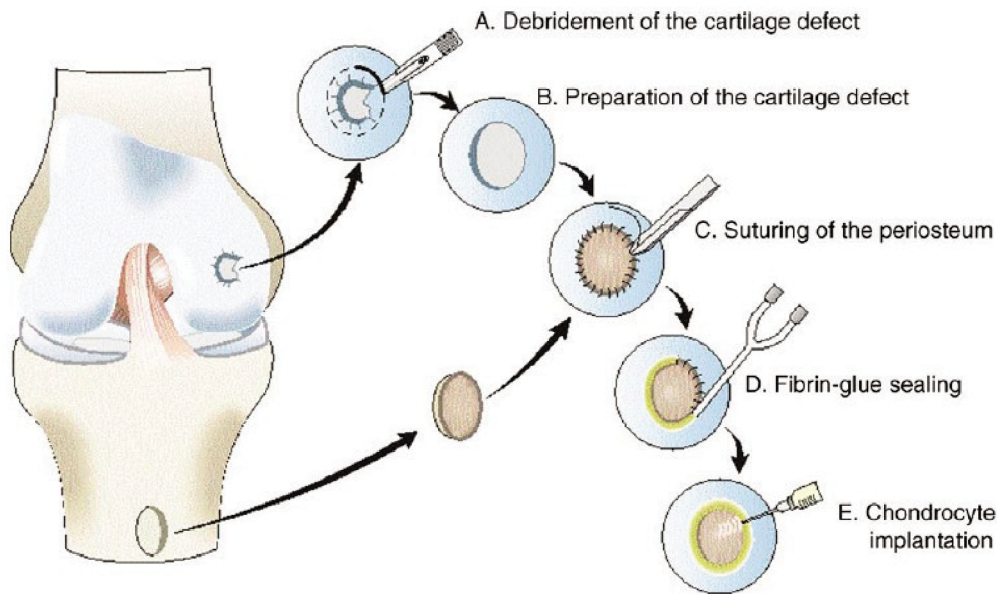


图1 第一代 ACT 技术基本步骤,依次是 A:缺损区清创。B:缺损区准备。C:骨膜获取和缝合。D:纤维蛋白胶密闭。E:软骨细胞悬液注入。

Fig.1 The procedures of first generation of ACT: A,Debridement of the cartilage defect. B,Preparation of the cartilage defect. C,Suture of the periosteum. D,Fibrin-glue sealing. E,Chondrocyte implantation.

并使用纤维胶固定。不需要进行骨膜片和胶原膜的缝合固定。作为移植载体的材料最常见的是含有立体植入的软骨种子细胞的 I / III 型双层胶原膜和透明质酸支架。MACT 技术操作方便,手术时间短,只需很小的切口便可以完成移植;移植物使用纤维胶粘合,无需进行缝合固定;因为软骨细胞是预先种植在生物支架上的,不必担心术后细胞流失的问题。

3 ACT 的临床效果

自 1994 年瑞典医生 Brittberg 首次报告使用自体软骨细胞移植治疗膝关节软骨缺损以来,该技术在全球范围内广泛应用。目前,不同地区多位学者均有自体软骨细胞移植技术的相关报导,随访效果显示疗效稳定。Marcacci 等^[14]使用 MACT 技术治疗 141 例膝关节软骨缺损患者,术后进行 2~5 年的随访,平均 38 个月,91.5% 患者功能改善,76% 患者无疼痛,88% 患者运动正常,组织学检查大多是透明样软骨。Browne 等^[15]对 87 例关节软骨平均缺损面积约 4.9 cm² 的患者进行 ACT 治疗。5 年以上的随访显示 62 例功能明显改善,有效率约为 71%。Brittberg 等^[16]对 224 例 ACT 患者随访 2~10 年,显示术后优良率高达 84%~90%。Zaslav 等^[17]应用 ACT 技术治疗 126 例膝关节软骨损伤患者(均有失败的前期治疗)并平均随访 4 年,76% 患者显示良好的临床疗效,术前疼痛等症状明显减轻,生活质量得到提高。Browne 等^[18]对一组因大面积软骨缺损接受 ACT 手术的病人(其中 70% 的病人至少有 1 次失败的软骨缺损修复治疗经历)进行平均 5 年随访发现,关节疼痛、肿胀、活动度等显著改善。Gooding 等^[19]随机对比 MACT 和 C-ACT 技术,术后 1 年关节功能评分明显提升,两组病人术后效果无明显差别。Behren 等^[20]对一组 MACT 术后病人 5 年以上随访显示关节功能良好,评分提高明显。

国内方面,张仲文等^[20]报告了 10 例接受 MACT 治疗的患

者,患者平均年龄 34.9 岁(14~57 岁),缺损的平均面积(3.69±2.62) cm²。术后随访 1~2 年,显示疼痛症状明显改善,生活质量提高。患者术后 3 个月的 MRI 显示软骨缺损部位得到大部分填充和修复,6 个月移植软骨基本与周围软骨完全整合,1 年后修复组织呈等信号,软骨下骨髓水肿消失,2 年后大部分患者软骨修复组织信号与周围组织信号强度一致,软骨下骨无骨髓水肿。术后 15 个月和 2 年的组织学检查显示新生的软骨组织以透明软骨为主。另外,施培华、欧阳宏伟等也报道了 6 例接受 ACT 治疗的患者,关节软骨缺损面积 2~12 cm²。术后最长随访时间 14 个月,无不良反应,疼痛症状改善。

4 展望

自体软骨细胞移植作为一项较新的技术,在临床应用的初步阶段就已经取得了令人鼓舞的效果,已经普遍被认为是一项修复关节软骨缺损安全、可靠、有效的治疗手段。随着医学技术的不断进步和对自体软骨细胞移植技术的持续深入研究,自体软骨细胞移植技术仍有继续提升的空间和广泛的应用前景。

目前大量的临床随访数据多为初期和中期的效果评价,对于大量长期的临床效果仍需进一步观察。第三代自体细胞软骨移植技术开始应用可降解的生物材料作为软骨细胞支架,如何选择一种更为理想的支架材料仍然需要进一步的研究论证。软骨细胞在体外培养过程中如何快速增殖、在支架中均匀的空间分布、细胞的去分化、术后与周围正常软骨的融合以及耐磨性、硬度的问题,需要进一步提升和改善。另外,术后如何制定个体化的康复方案,不同时期的核磁共振对移植物的评估,增加新生修复组织中透明软骨的比例等问题需进一步改进。

参考文献(References)

[1] 易守红,郭林,陈光兴,等. 2479 例膝关节手术患者关节软骨损

- 伤的流行病学分布特征 [J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(9): 957-960
- Yi Shou-hong, Guo Lin, Chen Guang-xing, et al. Articular cartilage lesions: clinical epidemiology of 2479 patients undergoing knee arthroscopy [J]. Journal of the Third Military Medical University, 2011, 33(9): 957-960
- [2] 余家阔. 膝关节软骨全层缺损的常用修复方法[J]. 中华关节外科杂志电子版, 2010, 4(6): 1-8
- Yu Jia-kuo. Common processes for cartilage full-thickness defects repair in the knee[J]. Chin J Joint Surg (Electronic Edition), 2010, 4(6): 1-8
- [3] Marcacci M, Kon E, Delcogliano M, et al. Arthroscopic autologous osteochondral grafting for cartilage defects of the knee: prospective study results at a minimum 7-year follow-up [J]. Am J Sports Med, 2007, 35(12): 2014-2021
- [4] Lane JG, Healey RM, Chen AC, et al. Can osteochondral grafting be augmented with microfracture in an extended-size lesion of articular cartilage?[J]. Am J Sports Med, 2010, 38(7): 1316-1323
- [5] Eric JS, Lauren EF, Mehul RS, et al. Management of focal cartilage defects in the knee, Is ACI the answer?[J]. Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases, 2011, 69(1): 63-72
- [6] Horas U, Pelinkovic D, Herr G, et al. Autologous chondrocyte implantation and osteochondral cylinder transplantation in cartilage repair of the knee joint. A prospective, comparative trial [J]. J Bone Joint Surg Am, 2003, 85: 185-192
- [7] Bentley G, Biant LC, Carrington RW, et al. A prospective, randomised comparison of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for osteochondral defects in the knee [J]. J Bone Joint Surg(Sr), 2003, 85: 223-230
- [8] Krishnan SP, Skinner JA, Bartlett W, et al. Who is the ideal candidate for autologous chondrocyte implantation?[J]. J Bone Joint Surg Br, 2006, 88: 61-64
- [9] Marlovits S, Hombauer M, Truppe M, et al. Changes in the ratio of type-I and type-II collagen expression during monolayer culture of human chondrocytes[J]. J Bone Joint Surg Br, 2004, 86(2): 286-295
- [10] Rosenberger RE, Gomoll AH, Bryant T, et al. Repair of large chondral defects of the knee with autologous chondrocyte implantation in patients 45 years or older[J]. Am J Sports Med, 2008, 36: 2336-2344
- [11] Henderson I, Gui J, Lavigne P, et al. Autologous chondrocyte implantation: natural history of postimplantation periosteal hypertrophy and effects of repair-site debridement on outcome [J]. Arthroscopy, 2006, 22: 1318-1324
- [12] Haddo O, Mahroof S, Higgs D, et al. The use of chondrocyte membrane in autologous chondrocyte implantation [J]. Knee, 2004, 11(1): 51-55
- [13] Gooding CR, Bartlett W, Bentley G, et al. A prospective, randomised study comparing two techniques of autologous chondrocyte implantation for osteochondral defects in the knee: Periosteum covered versus type I/III collagen covered[J]. Knee, 2006, 13: 203-210
- [14] Marcacci M, Berruto M, Brocchetta D, et al. Articular cartilage engineering with Hyalograft C: 3-year clinical results [J]. Clin Orthop Relat Res, 2005, (435): 96-105
- [15] Browne JE, Anderson AF, Arciero R, et al. Clinical outcome of autologous chondrocyte implantation at 5 years in US subjects [J]. Clin Orthop Relat Res, 2005, (436): 237-245
- [16] Brittberg M, Peterson L, Sjogren-Jansson E, et al. Articular cartilage engineering with autologous chondrocyte transplantation, A review of recent developments[J]. J Bone Joint Surg Am, 2003, 85(3): 109-115
- [17] Zaslav K, Cole B, Brewster R, et al. A prospective study of autologous chondrocyte implantation in patients with failed prior treatment for articular cartilage defect of the knee: results of the Study of the Treatment of Articular Repair (STAR) clinical trial [J]. Am J Sports Med, 2009, 37(1): 42-55
- [18] Browne JE, Anderson AF, Arciero R, et al. Clinical outcome of autologous chondrocyte implantation at 5 years in US subjects [J]. Clin Orthop Relat Res, 2005: 237-245
- [19] Behrens P, Bitter T, Kurz B, et al. Matrix-associated autologous chondrocyte transplantation/implantation (MACT/MACI) 5-year followup[J]. Knee, 2006, 13: 194-202
- [20] 张仲文, 侯世科, 杨造成, 等. 基质诱导的自体软骨细胞移植术修复膝关节软骨缺损 10 例术后 2 年的随访 [J]. 中华关节外科杂志电子版, 2010, 4(6): 734-741
- Zhang Zhong-wen, Hou Shi-ke, Yang Zao-cheng, et al. Matrix-induced autologous chondrocytes implantation for cartilage repair of knee: a two-year follow-up in 10 patients [J]. Chin J Joint Surg(Electronic Edition), 2010, 4(6): 734-741

(上接第 2371 页)

- [17] David Brea, Miguel Blanco, Pedro Ramos-Cabrera, et al. Toll-like receptors 2 and 4 in ischemic stroke: outcome and therapeutic values[J]. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 2011, 31: 1424-1431
- [18] Philberta Y. Leung, PhD; Susan L. Stevens, BS; Amy E. B. Packard, PhD et al Toll-Like Receptor 7 Preconditioning Induces Robust Neuroprotection Against Stroke by a Novel Type I Interferon-Mediated Mechanism[J]. Stroke, 2012, 43(5): 1383-1389
- [19] Susan L. Stevens, Thomas MP Ciesielski, Brenda J Marsh, et al. Toll-like receptor 9: a new target of ischemic preconditioning in the brain[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2008, 28: 1040-1047
- [20] Yan Kong, Yingying Le. Toll-like receptors in inflammation of the central nervous system[J]. International Immunopharmacology, 2011, 11(2): 1407-1414