

## 软骨干细胞修复软骨损伤及治疗骨关节炎的研究进展

袁雪凌, 孟昊业, 刘若西, 王程, 彭江, 郭全义, 汪爱媛, 卢世璧

解放军总医院 骨科研究所 / 北京市再生医学重点实验室 / 全军战创伤重点实验室, 北京 100853

**摘要:** 软骨损伤通常导致整个关节的病变, 从而诱发骨性关节炎。目前已证实关节软骨中存在一类具有自我增殖性、表面抗原表达特性及多向分化潜能的软骨干细胞, 该类细胞可以自发聚集到损伤部位进行修复, 有利于快速构建软骨修复的微环境。但软骨干细胞的起源和功能尚需进一步明确。本文就软骨干细胞在软骨损伤修复中的作用及对骨性关节炎的治疗等研究进展进行综述。

**关键词:** 软骨干细胞; 软骨损伤; 骨关节炎

**中图分类号:** R 684.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2017)09-0890-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2017.09.023

**网络出版时间:** 2017-04-26 10:55 **网络出版地址:** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20170426.1055.004.html>

### Research advance of cartilage-derived stem/progenitor cell in cartilage repair and its therapeutic potential in osteoarthritis

YUAN Xueling, MENG Haoye, LIU Ruoxi, WANG Cheng, PENG Jiang, GUO Quanyi, WANG Aiyuan, LU Shibi

Department of Orthopedic Surgery, Key Laboratory of Musculoskeletal Trauma & War Injuries PLA, Beijing Key Lab of Regenerative Medicine in Orthopedics, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: LU Shibi. Email: lushibi301@126.com

**Abstract:** Articular cartilage is a physiologically non-self-renewing avascular and nerveless tissue. Injury to cartilage often involves the whole joint, leading to development of degenerative joint diseases such as osteoarthritis (OA). Articular cartilage has been shown to contain a population of so-called cartilage-derived stem/progenitor cells (CSPCs), which are characterized by stem-cell related surface markers, clonogenicity and multilineage differentiation ability. The CSPCs are spontaneously aggregated and migrated to the damaged region to reconstruct the local microenvironment for repair. However, the origin and functions of CSPCs still remain unclear. Here we review the current status of CSPC research and discuss the possible role of cartilage stem cell may have in cartilage repair, and its therapeutic potential in OA.

**Keywords:** cartilage stem cell; cartilage injury; osteoarthritis

软骨组织缺乏血管和神经营养, 自我修复能力不足, 软骨的缺损经常会导致以软骨退变、软骨下骨硬化、骨赘形成及关节内炎症为特点的骨性关节炎(osteoarthritis, OA)<sup>[1-2]</sup>。因此, 为早期关节软骨损伤提供有效治疗, 阻止软骨损伤的进一步发展, 减少骨关节炎的发病十分重要。随着组织工程技术、干细胞治疗技术的发展, 人们在软骨损伤及骨关节炎治疗方面取得诸多进展, 为治疗软骨病变带来了新选择。尤其是软骨来源的干细胞或软骨前体干细胞(cartilage-derived stem/progenitor cells, CPSCs)的发现和研 究, 为从不同角度治疗软骨病变开辟了新的道路。本文就软骨干细胞在软骨损伤修复中的作用及对骨性关节炎的治疗等研究进展进行综述。

#### 1 软骨损伤及骨关节炎的病变特点

正常情况下, 关节内的稳态主要通过分子介质和信号

通路之间的平衡调节, 关节软骨和软骨下骨被分别隔离在关节腔和骨髓腔内。关节腔与骨髓腔的血液供应、氧分压和生物活性因子种类及含量均有很大差异, 是两种完全不同的微环境<sup>[3]</sup>。但在骨关节炎发病机制下, 异常的生物力学和生物学过程导致关节软骨及软骨下骨结构、成分及性能的平衡被打破<sup>[4]</sup>。骨-软骨连接处的结构完整性被破坏, 大量因软骨表面磨损产生的多发裂隙、微裂缝等有孔隙的传输通道使软骨下骨的血管通道破坏骨-软骨界面, 侵入非钙化软骨, 极大提高了分泌因子通过界面的能力<sup>[5]</sup>。骨-软骨复合单元中的任一调节因子可作用于另一区域并影响相邻组织的平衡稳态, 软骨细胞和软骨下骨细胞分泌的介质和因子可相互影响, 破坏各自生长的微环境<sup>[6]</sup>。

异常的软骨细胞生长微环境紊乱, 合成大量细胞因子、炎性因子, 包括白细胞介素1(interleukin-1, IL-1)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、组织降解破坏酶类如基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)、解聚蛋白样金属蛋白酶<sup>[7-8]</sup>。软骨细胞分泌与软骨细胞肥大及软骨细胞终末分化相关的分子, 如血管内皮生长因子、转录相关因子(Runx2)、基质金属蛋白酶13(MMP13), 软骨浸润在充斥炎性因子的有害环境中, 导致软骨钙化层增厚, 软骨结构破坏, 软骨表面粗糙及纤维化。继而引起软骨下骨重塑增厚、软骨下骨板硬

收稿日期: 2017-04-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(51073024; 81472092; 81572148; 31640029); 军队“十三五”医学专项(BWS13C029)

Supported by the National Natural Science Foundation of China(51073024; 81472092; 81572148; 31640029); The Special Project of the "Thirteenth Five-year Plan" for Medical Science Development of PLA (BWS13C029)

作者简介: 袁雪凌, 男, 在读博士。Email: yuanxueling301@163.com

通信作者: 卢世璧, 男, 中国工程院院士, 博士生导师。Email: lushibi301@126.com

化及关节边缘新生骨赘、骨囊肿和骨髓损伤形成。

## 2 软骨干细胞的来源及特性

软骨细胞长期以来被认为是关节软骨中唯一存在的细胞类型,但是近年来一些研究提示软骨中除了软骨细胞外,还有软骨干细胞存在。该类细胞具有自我增殖性、表面抗原表达特性及多向分化潜能。Barbero等<sup>[9]</sup>于2003年研究发现人关节软骨细胞经过单层培养扩增去分化后,一小部分仍然具有细胞克隆及多向分化能力(成骨、成软骨及成脂)。Pretzel等<sup>[10]</sup>在2011年应用干细胞表面标记物(CD166/CD105)共表达的流式检测法验证正常人软骨及骨性关节炎患者关节软骨中是否存在干细胞及其分布特征,结果显示正常软骨细胞中有13.3%的细胞呈CD166/CD105阳性,关节炎患者的软骨细胞中双阳性比例可达18.7%,该CD166/CD105双阳性细胞多集中在软骨的表层中间层区域,且具备多向分化成骨细胞、脂肪细胞的能力。Notch-1基因作为干细胞的特殊标记物,是调节干细胞增殖和分化的重要信号分子。Hiraoka等<sup>[11]</sup>通过细胞流式检测及免疫组化结果发现,正常人关节软骨和关节炎患者软骨中均存在少量Notch-1阳性细胞。其他学者通过流式检测等方法也从猪及牛的正常关节软骨分离出软骨干细胞,再次证实关节软骨中存在干细胞。

关节软骨具有异质性及分区域结构,从软骨表面到深层可以分为软骨表层、移行层及深层区,不同的区域具有不同的生化组分及细胞表型。软骨表层的软骨细胞呈椭圆形,与关节表面平行,分泌表面蛋白多糖4(proteoglycan 4, PRG4);移行层细胞呈球形;深层区呈垂直于表面的柱状大体积软骨细胞。软骨细胞外基质(extracellular matrix, ECM)由Ⅱ型胶原、聚蛋白多糖及透明质酸组成。多项研究证实软骨干细胞主要来自于关节软骨的表层区域<sup>[12-13]</sup>。该类细胞具有以下特征:CD105(+), CD106(+), CD166(+), Notch-1(+), STRO-1(+), 表面肌动蛋白阳性<sup>[14-16]</sup>。

## 3 软骨干细胞在软骨损伤修复中的作用

正常关节软骨遭遇创伤时,来自细胞表层的软骨干细胞可迁移至损伤区域,自发修复受损软骨。Koelling等<sup>[17]</sup>证实晚期骨性关节炎患者的软骨中可以分离出软骨干细胞,该细胞能降低骨转录因子Runx-2的表达,增加软骨分化基因SOX9的表达。Seol等<sup>[18]</sup>用撞击或擦伤等不同的力学刺激方式作用于正常软骨,结果发现与正常软骨相比,7~14 d后损伤区域周围的细胞外基质中出现软骨干细胞的聚集现象,同时伴有IL-6的表达升高,Ⅱ型胶原及蛋白多糖含量下降。软骨ECM降解破坏产生的酶类如基质金属蛋白酶可促进或招募软骨干细胞的迁移,细胞趋化实验证实细胞迁移的特定标记物高迁移率族蛋白1的表达与炎症反应中IL-1 $\beta$ 的表达相关<sup>[19]</sup>。其他如血清中的胰岛素生长因子及关节液中的血小板源性生长因子等均可促进软骨干细胞的趋化反应<sup>[20]</sup>。骨关节炎模型中异常的神经营养因子和IL-1 $\beta$ 高水平表达同样可以激活软骨干细胞的迁移及基质重塑<sup>[21]</sup>。由此可证实软骨干细胞的迁移现象与损伤导致的信号分子调节作用相关。对迁移细胞进一步进行PCR及免

疫组化分析可以发现,迁移细胞中PRG4的基因高表达<sup>[18]</sup>。PRG4编码形成润滑素,而润滑素常表达于关节软骨表层,起到防止关节磨损、润滑关节及防止软骨细胞凋亡等作用。当关节受到炎症、创伤等刺激时,关节表面受损而润滑素分泌下降。因此,高表达PRG4的软骨干细胞可能对关节软骨表面重塑及修复起到一定作用。

大量证据表明在骨关节炎中软骨干细胞的产生聚集与软骨ECM降解破坏相关,软骨干细胞在骨关节炎各个阶段均可以发现。骨关节炎中异常的生物力学和生物学过程导致了骨-软骨复合单元的结构、成分及性能的变化。骨关节炎的早期以表层软骨缺损退变和软骨下骨吸收增加为主,软骨裂隙周围可见细胞团聚现象,同时伴有分解代谢酶类的表达量增高。其中多数细胞表面表达Notch-1、STRO-1及内皮细胞黏附蛋白1阳性,同时免疫组化结果证明该类阳性细胞主要表达在软骨表层区域<sup>[22-23]</sup>。OA晚期细胞外基质大量丢失且软骨细胞肥大退变,退变软骨区域可见大量软骨干细胞迁移聚集<sup>[17]</sup>。由于骨关节炎晚期潮线破坏,来自于软骨下骨的血管神经大量增生侵袭软骨,骨-软骨复合单元中的任一部分产生的调节因子可作用于另一区域并影响相邻组织的平衡稳态,软骨与软骨下骨、滑液间的交互作用加强<sup>[24-25]</sup>。迁移的软骨干细胞可能在骨-软骨复合单元的交互作用中起到信号传递分子的作用,具体机制有待进一步发现。

## 4 软骨干细胞在骨关节炎治疗中的作用

软骨干细胞在骨关节炎不同时期的表达及作用有差异,软骨干细胞靶向治疗的方法必须考虑OA不同时期的病变特点。早期OA的治疗策略应以加强软骨ECM重塑,抑制软骨退变,保护软骨正常结构和成分为主。注入外源性或自体软骨干细胞,首先可以招募聚集更多细胞产生大量润滑素,重塑软骨表面<sup>[26]</sup>;其次软骨干细胞可以产生更多的合成信号分子如转化生长因子、骨形态生长蛋白等保护软骨ECM<sup>[27]</sup>,稳定软骨再生微环境,防止其进一步丢失破坏。同时软骨干细胞可以抑制破坏软骨基质的酶类如基质金属蛋白酶及炎性介质IL-1的释放产生<sup>[28-29]</sup>。晚期OA时软骨基质大量丢失,来自于软骨下骨的血管神经大量增生,裂隙深达软骨下骨,软骨与软骨下骨间的分子水平及细胞层次的交互作用加强<sup>[30]</sup>。因此晚期OA的治疗策略应以促进软骨干细胞的迁移为主。Zhang等<sup>[31]</sup>研究发现晚期OA异常重塑增厚的软骨下骨表面有一层保护ECM的类软骨组织,可以促进润滑素释放并聚集软骨细胞,该组织的产生与内源性软骨干细胞迁移募集现象有关。通过内源性软骨干细胞的募集或外源性注射可能是治疗晚期OA的可行方案之一。

## 5 结语

大量证据表明软骨干细胞产生于人关节软骨,尤其是遭遇创伤的关节软骨。该类细胞具有干细胞的自我增殖性、表面抗原表达特性及多向分化潜能等。它在骨关节炎的不同时期形态及表达均有差异,可通过产生润滑素、保护ECM基质、抑制炎性介质及分解代谢酶类产生等机制防止软骨退变。根据其在OA早晚期的不同特点,可以针对性

地通过内源性软骨干细胞的募集或外源性干细胞注射等方法治疗骨关节炎。

#### 参考文献

- Martel-Pelletier J, Barr AJ, Cicuttini FM, et al. Osteoarthritis [J]. *OL*. <https://www.nature.com/articles/nrdp201672>.
- Loeser RF, Goldring SR, Scanzello CR, et al. Osteoarthritis: a disease of the joint as an organ [J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(6): 1697-1707.
- Poulet B, Staines KA. New developments in osteoarthritis and cartilage biology [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2016, 28: 8-13.
- 刘若西, 袁雪凌, 王程, 等. 细胞外基质与能量代谢在骨性关节炎衰老机制中的作用综述 [J]. *解放军医学院学报*, 2017, 38(3): 242-244.
- Mapp PI, Walsh DA. Mechanisms and targets of angiogenesis and nerve growth in osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2012, 8(7): 390-398.
- Mobasheri A, Henrotin Y. Biomarkers of (osteo) arthritis [J]. *Biomarkers*, 2015, 20(8): 513-518.
- Berenbaum F. Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis!) [J]. *Osteoarthr Cartil*, 2013, 21(1): 16-21.
- 余晓明, 袁雪凌, 孟昊业, 等. 骨性关节炎患者膝关节软骨及软骨下骨中 miR-214 的表达 [J]. *解放军医学院学报*, 2015(11): 1131-1133.
- Barbero A, Ploegert S, Heberer M, et al. Plasticity of clonal populations of dedifferentiated adult human articular chondrocytes [J]. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(5): 1315-1325.
- Pretzel D, Linss S, Rochler S, et al. Relative percentage and zonal distribution of mesenchymal progenitor cells in human osteoarthritic and normal cartilage [J]. *Arthritis Research & Therapy*, 2011, 13(2): R64.
- Hiraoka K, Grogan S, Olee T, et al. Mesenchymal progenitor cells in adult human articular cartilage [J]. *Biorheology*, 2006, 43(3-4): 447-454.
- Dowthwaite GP, Bishop JC, Redman SN, et al. The surface of articular cartilage contains a progenitor cell population [J]. *J Cell Sci*, 2004, 117(Pt 6): 889-897.
- Jiang Y, Tuan RS. Origin and function of cartilage stem/progenitor cells in osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2015, 11(4): 206-212.
- Williams R, Khan IM, Richardson K, et al. Identification and clonal characterisation of a progenitor cell sub-population in normal human articular cartilage [J]. *PLoS One*, 2010, 5(10): e13246.
- Karlsson C, Lindahl A. Articular cartilage stem cell signalling [J]. *Arthritis Res Ther*, 2009, 11(4): 121.
- Lotz MK, Otsuki S, Grogan SP, et al. Cartilage cell clusters [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(8): 2206-2218.
- Koelling S, Kruegel J, Irmer M, et al. Migratory chondrogenic progenitor cells from repair tissue during the later stages of human osteoarthritis [J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 4(4): 324-335.
- Seol D, McCabe DJ, Choe H, et al. Chondrogenic progenitor cells respond to cartilage injury [J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(11): 3626-3637.
- García-Aranda I, Guillén MI, Castejón MA, et al. Haem oxygenase-1 down-regulates high mobility group box 1 and matrix metalloproteinases in osteoarthritic synoviocytes [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2010, 49(5): 854-861.
- Joos H, Wildner A, Hogrefe C, et al. Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor alpha inhibit migration activity of chondrogenic progenitor cells from non-fibrillated osteoarthritic cartilage [J]. *Arthritis Res Ther*, 2013, 15(5): R119.
- Jiang Y, Hu C, Yu S, et al. Cartilage stem/progenitor cells are activated in osteoarthritis via interleukin-1 $\beta$ /nerve growth factor signaling [J]. *Arthritis Res Ther*, 2015, 17: 327.
- Lotz MK, Otsuki S, Grogan SP, et al. Cartilage cell clusters [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(8): 2206-2218.
- Grogan SP, Miyaki S, Asahara H, et al. Mesenchymal progenitor cell markers in human articular cartilage: normal distribution and changes in osteoarthritis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2009, 11(3): R85.
- Goldring SR. Alterations in periarticular bone and cross talk between subchondral bone and articular cartilage in osteoarthritis [J]. *Ther Adv Musculoskelet Dis*, 2012, 4(4): 249-258.
- Yuan XL, Meng HY, Wang YC, et al. Bone-cartilage interface crosstalk in osteoarthritis: potential pathways and future therapeutic strategies [J]. *Osteoarthr Cartil*, 2014, 22(8): 1077-1089.
- Elsaid KA, Jay GD, Warman ML, et al. Association of articular cartilage degradation and loss of boundary-lubricating ability of synovial fluid following injury and inflammatory arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2005, 52(6): 1746-1755.
- Flannery CR, Zollner R, Corcoran C, et al. Prevention of cartilage degeneration in a rat model of osteoarthritis by intraarticular treatment with recombinant lubricin [J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60(3): 840-847.
- Somoza RA, Welter JF, Correa D, et al. Chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells: challenges and unfulfilled expectations [J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2014, 20(6): 596-608.
- Chen B, Qin J, Wang H, et al. Effects of adenovirus-mediated bFGF, IL-1Ra and IGF-1 gene transfer on human osteoarthritic chondrocytes and osteoarthritis in rabbits [J]. *Exp Mol Med*, 2010, 42(10): 684-695.
- Goldring SR, Goldring MB. Changes in the osteochondral unit during osteoarthritis: structure, function and cartilage-bone crosstalk [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2016, 12(11): 632-644.
- Zhang D, Johnson LJ, Hsu HP, et al. Cartilaginous deposits in subchondral bone in regions of exposed bone in osteoarthritis of the human knee: histomorphometric study of PRG4 distribution in osteoarthritic cartilage [J]. *J Orthop Res*, 2007, 25(7): 873-883.

欢 迎 投 稿      欢 迎 订 阅