

诱导多能干细胞来源间充质干细胞对大鼠骨关节炎的治疗作用

何继晨¹, 严君逸², 程琢玉¹, 程润¹, 赵英杰¹, 魏伟¹, 严尚学¹

作者单位:¹安徽医科大学临床药理研究所、抗炎免疫药物教育部重点实验室、抗炎免疫药物安徽省

协同创新中心, 安徽 合肥 230032; ²安徽医科大学第一临床医学院, 安徽 合肥 230032

通信作者: 严尚学, 男, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向为抗炎免疫药理学, E-mail: yan-shx@163.com

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目(201710366007)

摘要: **目的** 研究诱导多能干细胞来源间充质干细胞(iPSC-MSCs)对大鼠骨关节炎(OA)的治疗作用。**方法** 采用 Hulth 法建立大鼠 OA 模型, 编号后运用 Excel 表格随机分组功能将其分为模型组、iPSC-MSCs 组、人脐带来源间充质干细胞(hUC-MSCs)组、玻璃酸钠(HA)阳性对照组, 另设假手术组作为对照, 每组 10 只。除 HA 组动物多次给药(每周 1 次, 共给药 5 次)外, 其它各组均单次给药, 每次每只动物在术侧关节腔注射 50 μ L 药物 iPSC-MSCs 和 hUC-MSCs, 假手术组和模型组同法给予生理盐水。给药 5 周后处死动物, 观察 iPSC-MSCs 对关节直径差值、关节腔结构及评分、关节面评分、病理学评分等指标的影响; 检测膝关节基质金属蛋白酶(MMP)-13、II 型胶原(Collagen II)及解聚蛋白样金属蛋白酶(ADAMTS)-5 表达情况。**结果** iPSC-MSCs 和 hUC-MSCs 给药均可显著降低膝关节面 Pelletier 评分、关节直径和病理 Mankin 评分, 改善关节腔结构, 降低 X 线评分和关节肿胀, 且 iPSC-MSCs 较 hUC-MSCs 给药在降低 Pelletier 评分[(1.22 $\pm$ 0.67)比(2.00 $\pm$ 0.71), $P=0.021$]方面差异有统计学意义; 相比于模型组, iPSC-MSCs 关节腔注射给药可显著增加软骨层 Collagen II 表达[(35.87 $\pm$ 8.52)比(69.90 $\pm$ 7.65), $P<0.01$], 降低 MMP-13[(59.25 $\pm$ 5.56)比(33.75 $\pm$ 5.85), $P<0.01$]和 ADAMTS-5[(52.25 $\pm$ 10.47)比(22.25 $\pm$ 6.13), $P<0.01$]表达水平, 且与 hUC-MSCs 给药差异有统计学意义, iPSC-MSCs 组与 hUC-MSCs 组 Collagen II、MMP-13、ADAMTS-5 值分别为[(69.90 $\pm$ 7.65)比(61.00 $\pm$ 5.52), $P=0.010$]、[(33.75 $\pm$ 5.85)比(43.25 $\pm$ 6.02), $P=0.028$]、[(22.25 $\pm$ 6.13)比(36.50 $\pm$ 4.65), $P=0.011$]。**结论** 关节腔注射 iPSC-MSCs 可显著改善 OA 大鼠关节病理, 具有明显的软骨保护作用。

关键词: 骨关节炎; 脐血干细胞移植; 注射, 关节内; 诱导多能干细胞; 间质干细胞; 软骨损伤; 大鼠

Therapeutic roles of induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells on experimental model of osteoarthritis

HE Jichen¹, YAN Junyi², CHENG Zhuoyu¹, CHENG Run¹, ZHAO Yingjie¹, WEI Wei¹, YAN Shangxue¹

Author Affiliations: ¹Institute of Clinical Pharmacology, Anhui Medical University, Key Laboratory of Anti-inflammatory and Immune Medicine of the Education Ministry of China, Co-Innovation Center for Anti-inflammatory and Immune Medicine (Anhui, China), Hefei, Anhui 230032, China;

²First School of Clinical Medicine, Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230032, China

Abstract: **Objective** To elucidate the protective effects of induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells (iPSC-MSCs) on osteoarthritis (OA) in rats. **Methods** The OA model was established by Hulth method and 50 rats were randomized into sham group (control group), model group, iPSC-MSCs group, human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells (hUC-MSCs) group, and hyaluronic acid (HA) positive control group, and each group with 10 rats. Rats in the HA group were given multiple dosing (once a week, a total of 5 times), rats in sham and model groups were dealt with 50 μ L saline, all the other rats were injected with 50 μ L drugs in the joint of the surgery side. At the end of 5th week, rats were sacrificed by cervical dislocation. The joint diameter difference, joint cavity structure and score, articular surface score, pathological score and other indicators were observed. The expression of matrix metalloproteinase (MMP)-13, type II collagen (Collagen II) and depolymerized protein-like metalloproteinase (ADAMTS)-5 were detected. **Results** Administration of iPSC-MSCs and hUC-MSCs markedly reduced the knee joint Pelletier score, joint diameter and pathological Mankin score, improved joint cavity structure, and decreased X-ray score and joint swelling. The Pelletier score in hUC-MSCs group and iPSC-MSCs group has statistical difference [(2.00 $\pm$ 0.71) vs. (1.22 $\pm$ 0.67), $P=0.021$]. Compared with model group, administration with iPSC-MSCs significantly increased the expression of Collagen II in the cartilage layer [(35.87 $\pm$ 8.52) vs. (69.90 $\pm$ 7.65), $P<0.01$], inhibited the expression of MMP-13 [(59.25 $\pm$ 5.56) vs. (33.75 $\pm$ 5.85), $P<0.01$] and ADAMTS-5 [(52.25 $\pm$ 10.47) vs. (22.25 $\pm$ 6.13), $P<0.01$]. Compared with hUC-MSCs group, administration with iPSC-MSCs was more effec-

tive in increasing Collagen II level [(69.90 ± 7.65) vs. (61.00 ± 5.52), $P = 0.010$], and reducing the expression of MMP-13 [(33.75 ± 5.85) vs. (43.25 ± 6.02), $P = 0.028$] and ADAMTS-5 [(22.25 ± 6.13) vs. (36.50 ± 4.65), $P = 0.011$]. **Conclusion** iPSC-MSCs could improve the joint pathology of OA rats and may exert the obvious protective effects on cartilage.

Key words: Osteoarthritis; Cord blood stem cell transplantation; Injections, intra-articular; Induced pluripotent stem cells; Mesenchymal stem cells; Cartilage injury; Rats

骨关节炎 (osteoarthritis, OA) 是一种通常发生在中老年人身上的慢性关节疾病,表现为关节僵硬、持续性疼痛甚至残疾,并伴随不同程度的炎症和软骨缺损^[1]。随着人口老龄化的加剧,OA 的发病率逐年增高,已经发展成为突出的社会问题。OA 是一种退行性疾病,目前尚无有效的治疗措施。临床上主要通过关节腔内注射润滑补充剂^[2]或使用非甾体类药物、类固醇等缓解症状,减轻疼痛并控制炎症,以及在 OA 晚期运用关节置换等外科手术治疗^[3]。然而这些方法只能暂时缓解病人疼痛和病情,并不能逆转软骨损伤和炎症进程^[4]。采用细胞疗法修复和再生关节组织的结构和功能成为一种新的治疗选择。

间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 具有多向分化潜能,能够分化成骨、软骨、脂肪、神经等多种成体细胞,而且还具有广泛的免疫调节特性,现已被应用于免疫和炎症性疾病^[5-6]。骨髓源 MSCs 是最早研究的 MSCs,但因其取材侵袭性强,体内数量有限等,已经逐渐被其他来源的 MSCs 所取代。人脐带来源的 MSCs (human umbilical cord derived MSCs, hUC-MSCs) 是 MSCs 的另一种重要细胞来源,因为其容易分离培养、低免疫原性和强大的体外扩增能力而被广泛运用。有研究发现, hUC-MSCs 可抑制 IL(白细胞介素)-1 β 诱导的炎症反应,并通过向软骨分化从而修复损伤的软骨组织^[7]。诱导多能干细胞来源 MSCs (induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells, iPSC-MSCs) 是将成熟体细胞制成单细胞悬液后加入特定转录因子重编程回到胚胎状态,然后在 MSCs 培养基中进行扩增并诱导分化成 MSCs。iPSC-MSCs 作为一种新型干细胞,比传统干细胞具有更有效、更可靠的再生能力,更容易从成人组织中通过重编程获得,并显示出更大的增殖潜能,可产生大量功能均一的 MSCs^[8]。有研究表明, iPSC-MSCs 可诱导成骨分化, iPSC-MSCs 来源的外泌体可促进血管生成,防止股骨头坏死等^[9-10]; iPSC-MSCs 移植可促进新西兰兔关节表面缺损处生成新的透明软骨^[11],也可通过旁分泌途径分泌一些因子抑制半胱氨天冬氨酸蛋

白酶的裂解从而参与炎症调节过程^[12]。iPSC-MSCs 已经成为骨髓源、脐带源等 MSCs 和再生药物治疗 OA 的一种很有前途的替代细胞来源。尽管关于 iPSC-MSCs 治疗 OA 的研究很多,但是 iPSC-MSCs 的疗效、副作用及其作用机制仍有待进一步确认和深入研究。

基于 iPSC-MSCs 的优良特性和在软骨损伤方面的修复能力,本研究通过建立大鼠实验性骨关节动物模型,观察关节腔内注射 iPSC-MSCs 对 OA 大鼠的治疗作用并探讨其软骨保护作用机制。

本研究起止时间为 2017 年 11 月至 2018 年 10 月。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SD 大鼠 50 只,每只 180 ~ 200 g,雌雄各半,由安徽医科大学动物实验中心提供[医学实验动物许可证号 SYXK(皖)2017-006;合格证号 No. 34000200000978, 2017-10],自由饮食饮水。动物实验方案经安徽医科大学临床药理研究所实验动物伦理委员会批准(伦理号 LLSC20170382)。

1.2 药品与试剂 iPSC-MSCs (批号 NCIMP2018013101, 4×10^8 个细胞/毫升)和 hUC-MSCs (批号 NCMP2018013101, 4×10^8 个细胞/毫升)由安徽中盛溯源生物科技有限公司提供,给药前均经表型鉴定、计数和活力检查,细胞代次均为第 3 代。玻璃酸钠注射液 (hyaluronate, HA), 25 mg: 2.5 mL, 上海景峰制药有限公司产品 (批号 20171013)。抗 MMP-13 多克隆抗体 (ab39012)、抗 Collagen II (ab34712) 多克隆抗体、抗 ADAMTS-5 多克隆抗体 (ab41037) 为 Abcam 公司产品。

1.3 OA 模型的建立 采用 Hulth 法建立大鼠 OA 模型,造模前大鼠禁食 12 h。用 3% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉大鼠,仰卧位置于手术台上,常规备皮消毒右侧后肢膝关节,从髌骨旁内侧切开暴露膝关节,然后切断内侧副韧带,打开关节腔;随后,切除前交叉韧带和后交叉韧带,行抽屉实验确定前后交叉韧带是否被切断;切除内侧半月板。术中确保关节面无损伤。最后,彻底止血后缝合切口,假手术组除了不切断前交叉韧带、后

交叉韧带和内侧副韧带、半月板外,其余处理均同模型大鼠。术后不予固定手术侧膝关节,同时,所有大鼠每天肌内注射 20 万单位青霉素预防感染,持续 3 d。术后 1 周以后,每天用小动物转棒仪对各组大鼠进行运动训练,以加重 OA 大鼠患肢负重^[13]。

1.4 实验分组和给药方案 术后第 12 周,编号后,运用 Excel 表格随机分组功能,将模型大鼠随机分为 4 组:模型组、iPSC-MSCs 组(2.0×10^6 个细胞/只)、hUC-MSCs 组(2.0×10^6 个细胞/只)和 HA 组(10 mg/mL)。另设假手术组作为对照。每组 10 只。iPSC-MSCs 组和 hUC-MSCs 组每只大鼠一次性在术侧关节腔注射 50 μ L 细胞;HA 组大鼠每周一次关节腔注射 50 μ L HA,共 5 次;假手术组大鼠同法注射 50 μ L 磷酸盐缓冲液。所有大鼠于给药 5 周后处死。

1.5 指标检测

1.5.1 关节直径差值检测 术后每天观察大鼠的饮食和活动情况,并观察伤口愈合情况。每周测量和记录动物体质量,处死动物后用游标卡尺测量每只动物手术侧和对侧膝关节的直径,并计算两侧膝关节直径的差值。

1.5.2 X 线检查 给药结束后 1 周,每组取 4 只大鼠以 3% 戊巴比妥钠麻醉,行 X 线检查大鼠手术侧膝关节,并从膝关节腔大小、骨质硬化、骨赘形成等方面变化按凯尔格伦-劳伦斯(Kellgren-Lawrence)分级标准^[14]进行评分。

1.5.3 大鼠膝关节 Pelletier 评分 给药结束处死大鼠后,留取膝关节标本,在手术显微镜下暴露关节腔,观察股骨髁和胫骨平台关节面是否平整,并根据股骨内、外髁及胫骨平台等软骨表面退变情况按照 Pelletier 大体评分标准^[15]进行评分,评分越高表示关节面软骨损伤越严重。

1.5.4 大鼠膝关节病理学检查 处死大鼠后,取股骨内髁关节面,经体积分数 10% 的甲醛溶液室温固定 48 h,脱钙,石蜡纵向包埋,切片后 HE 染色。由独立观察者根据 Mankin 评分标准^[16]对每只动物的软骨结构、软骨细胞数量及潮线完整度进行组织学评分,评分越高表示软骨结构破坏越严重。

1.5.5 膝关节软骨基质金属蛋白酶(MMP)-13、II 型胶原(Collagen II)、解聚蛋白样金属蛋白酶(ADAMTS)-5 的检测 采用免疫组织化学方法检测 MMP-13、Collagen II、ADAMTS-5 在大鼠膝关节中的

表达。大鼠膝关节经脱钙、石蜡纵向包埋切片后,分别用乙二胺四乙酸(EDTA)抗原修复液和 3% 过氧化氢进行抗原修复并阻断内源性过氧化物的干扰,一抗孵育 4 $^{\circ}$ C 过夜,3 遍磷酸缓冲盐溶液(PBS)洗涤后滴加生物素二抗室温孵育 25 min,染色、封片后在光镜下观察。染色结果用 Image J 软件分析量化。

1.6 统计学方法 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 16.0 软件单因素方差分析进行多组间比较,多组间的两两比较采用 LSD-*t* 检验的方法;等级资料采用秩和检验分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 iPSC-MSCs 对 OA 大鼠膝关节直径差值的影响 实验结果如图 1 所示,与假手术组大鼠相比,模型组大鼠膝关节直径差值显著增大,提示手术侧膝关节直径显著增大、关节变形,OA 模型诱导成功;与模型组相比,iPSC-MSCs、hUC-MSCs 给药均可显著降低大鼠膝关节直径差值[(1.00 ± 0.40)比(2.34 ± 0.44), $P < 0.01$],[(1.33 ± 0.41)比(2.34 ± 0.44), $P < 0.020$],HA 给药也有类似作用[(1.48 ± 0.21)比(2.34 ± 0.44), $P < 0.049$]。

2.2 iPSC-MSCs 对 OA 大鼠膝关节 X 线评分的影响 X 线检查结果如表 1 所示。与假手术组相比,模型组大鼠出现明显的关节腔狭窄,部分形成可见的骨赘和骨质硬化,提示 OA 模型诱导成功;与模型组相比,iPSC-MSCs 给药可降低大鼠膝关节 X 线评分等级和重度(3、4 级)OA 动物数量,改善关节腔结构、减少骨赘形成和骨质硬化作用。

表 1 OA 大鼠膝关节 X 线评分与模型组的比较/只

组别	X 线评分等级				
	0	1	2	3	4
假手术组 ^a	3	1	0	0	0
模型组	0	0	1	2	1
iPSC-MSCs (2.0×10^6) 组 ^b	1	2	1	0	0
hUC-MSCs (2.0×10^6) 组 ^c	0	1	2	1	0
HA (10 mg/mL) 组 ^d	0	2	1	1	0

注:与模型组比较,^a $Z = 2.381$, $P = 0.029$;^b $Z = 2.205$, $P = 0.029$;^c $Z = 1.517$, $P = 0.200$;^d $Z = 0.168$, $P = 0.114$

2.3 iPSC-MSCs 对 OA 大鼠膝关节 Pelletier 评分的影响 解剖动物膝关节可见,假手术组大鼠关节面光滑平整,形态结构正常,关节腔内未见明显的关节积液及滑膜增生。模型组大鼠关节磨损严重,

软骨面粗糙,关节面色泽暗淡,部分动物出现软骨剥落,软骨下骨质暴露。图2结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠 Pelletier 评分显著增高;与模型组相比,给予 iPSC-MSCs 和 hUC-MSCs 均能显著降低 Pelletier 评分 $[(1.22 \pm 0.67)$ 比 (3.22 ± 0.83) , $P < 0.01$] $[(2.00 \pm 0.71)$ 比 (3.22 ± 0.83) , $P < 0.01$],改善软骨损伤,且 iPSC-MSCs 降低 Pelletier 评分较 hUC-MSCs $[(1.22 \pm 0.67)$ 比 (2.00 ± 0.71) , $P = 0.021$]和 HA $[(1.22 \pm 0.67)$ 比 (1.89 ± 0.60) , $P = 0.045$]给药差异有统计学意义。

2.4 iPSC-MSCs 对 OA 大鼠膝关节病理的影响

病理组织学检测结果及评分如图1所示,假手术组大鼠关节骨组织正常,软骨细胞分布均匀,排列规律整齐,4层结构清晰可见,潮线完整平滑。模型组大鼠软骨边缘部分缺损,软骨细胞排列紊乱,成簇分布,可见炎性细胞浸润和不规则裂隙深达辐射层,潮线漂移中断或出现多重潮线。相比于模型组,iPSC-MSCs 给药可显著减轻关节软骨退变状况,减少炎性细胞浸润,改善关节病理 (5.50 ± 1.29) 比 (1.75 ± 0.50) , $P < 0.01$ 。与 hUC-MSCs 组和阳性药 HA 组比较,iPSC-MSCs 对软骨结构的改善和降低病理 Mankin 评分差异有统计学意义 $[(3.25 \pm 1.26)$ 比 (1.75 ± 0.50) , $P = 0.041$] $[(4.00 \pm 0.82)$ 比 (1.75 ± 0.50) , $P = 0.004$]。

2.5 iPSC-MSCs 对 OA 大鼠膝关节中 Collagen II、MMP-13、ADAMTS-5 表达的影响 免疫组织化学方法检测大鼠膝关节软骨中 Collagen II、MMP-13、ADAMTS-5 含量,阳性结果为软骨细胞胞质内出现棕黄色染粒。结果如图2~4所示,与假手术组相比,模型组大鼠关节软骨中 Collagen II 降解严重,表达显著减少 $[(66.97 \pm 2.82)$ 比 (35.87 ± 8.52) , $P < 0.01$];与模型组相比,iPSC-MSCs 和 hUC-MSCs 给药组能显著增加软骨基质中 Collagen II 表达 $[(35.87 \pm 8.52)$ 比 (69.90 ± 7.65) , $P < 0.01$] $[(35.87 \pm 8.52)$ 比 (61.00 ± 5.52) , $P < 0.01$],阳性药 HA 组 Collagen II 表达水平低于 iPSC-MSCs 组 $[(49.31 \pm 12.32)$ 比 (69.90 ± 7.65) , $P = 0.010$],提示 iPSC-MSCs 可减少 OA 软骨基质的破坏,保护软骨基质。检测 MMP-13 和 ADAMTS-5 结果显示,模型组大鼠关节软骨中 MMP-13 和 ADAMTS-5 表达显著高于假手术组 $[(59.25 \pm 5.56)$ 比 (21.50 ± 4.51) , $P < 0.01$] $[(52.25 \pm 10.47)$ 比 (14.50 ± 4.20) , $P < 0.01$];各组给药均可显著降低模型大鼠膝关节软骨 MMP-13 和 ADAMTS-5 表达水平,其中

iPSC-MSCs 组 MMP-13 和 ADAMTS-5 的表达水平明显低于 hUC-MSCs 组 $[(33.75 \pm 5.85)$ 比 (43.25 ± 6.02) , $P = 0.028$] $[(22.25 \pm 6.13)$ 比 (36.50 ± 4.65) , $P = 0.011$]和 HA 组 $[(33.75 \pm 5.85)$ 比 (51.75 ± 5.56) , $P < 0.01$] $[(22.25 \pm 6.13)$ 比 (40.75 ± 5.56) , $P = 0.001$],提示 iPSC-MSCs 可以下调关节软骨中 MMP-13 和 ADAMTS-5 表达,降低软骨基质降解酶的水平。

3 讨论

Hulth 模型是研究 OA 的一种经典造模方法,通过切除内侧副韧带暴露大鼠关节腔,再切除内侧半月板和前后交叉韧带,破坏关节结构,导致关节应力失衡,增加关节间的摩擦,从而达到类似与人 OA 的病理改变。但由于动物术后的活动情况不一致等原因,模型成型率及 OA 严重度均不甚理想。为了提高模型的成型率,我们在动物手术1周后每天用小动物转棒仪对模型大鼠进行运动训练 10 min,转速从慢到快,加速、加重患肢的负担,显著提高了 OA 大鼠模型的成型率和严重度。造模 12 周后,大鼠手术侧膝关节出现增粗、硬骨变形,X 线检查结果显示手术侧关节腔变窄,骨赘形成,出现骨质硬化,提示 OA 大鼠造模成功,总体成型率达 90%。

iPSCs 是类似于胚胎干细胞的一种新型多能干细胞,可由病人自身的特定体细胞诱导,细胞质量可控,来源广泛,可以克服 hUC-MSCs 存在的伦理学、来源受限等问题,被认为是治疗各种组织损伤有希望的疗法^[17-18]。本研究发现,iPSC-MSCs 可显著降低大鼠手术侧和非手术侧膝关节直径差值,降低大鼠膝关节面 Pelletier 评分和 X 线评分,改善关节腔结构,减轻骨质硬化程度和骨赘等形成,提示 iPSC-MSCs 可缓解由于手术造成的关节不稳,对膝关节面之间摩擦而引起的骨质增生和硬化具有保护作用;iPSC-MSCs 关节腔注射可减少软骨层缺损,改善潮线完整度并降低病理学评分,修复后的软骨具有与正常软骨相似的典型透明特征,提示 iPSC-MSCs 对 OA 大鼠具有明显的治疗作用,且在降低 Pelletier 评分、改善关节病理和软骨基质退变方面较上市制剂 HA 以及脐带源 MSCs 具有一定的优势。

细胞外基质及软骨下骨合成和降解的失衡是 OA 发生的重要机制。关节软骨基质中硫酸软骨素蛋白多糖 (aggrecan) 与糖胺多糖透明质酸形成巨大的聚集体,吸水后膨胀的聚集体受另一种软

骨成分 Collagen II 网的束缚,这种复合结构赋予软骨基质抗压强度及减震性能^[19]。基质金属蛋白酶家族 MMP-13 是降解软骨细胞外基质的主要酶系,可以通过过度切割软骨基质中含量最多的 Collagen II,促进 Collagen II 三螺旋结构的裂解膨胀^[20],在 OA 病人关节软骨中,MMP-13 含量升高引起软骨基质网状 II 型胶原结构被破坏,从而导致关节软骨缺损。Aggrecan 是构成软骨基质的另一重要组成部分,可以保持软骨的弹性、含水量和结构完整性。解聚蛋白样金属蛋白酶家族中 ADAMTS-5 可以通过降解 aggrecan,导致软骨结构完整性丧失和关节功能受损,其含量与 OA 疾病的严重程度呈正相关^[21]。iPSC-MSCs 关节腔注射可抑制基质降解酶 MMP-13 和 ADAMTS-5 的表达,并增加基质中 Collagen II 的表达,提示 iPSC-MSCs 关节腔注射可以抑制软骨降解、促进 II 型胶原形成,发挥软骨保护作用。

综上,iPSC-MSCs 关节腔注射对大鼠 OA 具有明显的治疗作用,其机制与恢复软骨基质合成与降解的失衡有关。

(本文图 1,2 见插图 8-1;图 3,4 见插图 8-2)

参考文献

- [1] MEI L, SHEN B, LING P, et al. Culture-expanded allogenic adipose tissue-derived stem cells attenuate cartilage degeneration in an experimental rat osteoarthritis model [J]. PLoS One, 2017, 12(4): e176107. DOI:10.1371/journal.pone.0176107.
- [2] 刘静,李伦兰,单文山,等.关节腔内注射透明质酸治疗膝骨关节炎康复效果的 Meta 分析 [J]. 安徽医药,2018,22(7): 1380-1387.
- [3] 胡涛,罗志勤,罗丽珊,等.关节镜下单髁置换治疗中重度膝关节单间室骨关节炎的疗效观察 [J]. 安徽医药,2015,19(8): 1543-1545.
- [4] DUBEY NK, MISHRA VK, DUBEY R, et al. Combating osteoarthritis through stem cell therapies by rejuvenating cartilage: a review [J]. Stem Cells Int, 2018, 2018: 5421019. DOI: 10.1155/2018/5421019.
- [5] YEN ML, HOU CH, PENG KY, et al. Efficient derivation and concise gene expression profiling of human embryonic stem cell-derived mesenchymal progenitors (EMPs) [J]. Cell Transplant, 2011, 20(10): 1529-1545.
- [6] SANCHEZ L, GUTIERREZ-ARANDA I, LIGERO G, et al. Enrichment of human ESC-derived multipotent mesenchymal stem cells with immunosuppressive and anti-inflammatory properties capable to protect against experimental inflammatory bowel disease [J]. Stem Cells, 2011, 29(2): 251-262.
- [7] WU H, YIN Z, WANG L, et al. Honokiol improved chondrogenesis and suppressed inflammation in human umbilical cord derived mesenchymal stem cells via blocking nuclear factor- κ B pathway [J]. BMC Cell Biol, 2017, 18(1): 29.
- [8] DIEDERICH S, TUAN RS. Functional comparison of human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal cells and bone marrow-derived mesenchymal stromal cells from the same donor [J]. Stem Cells Dev, 2014, 23(14): 1594-1610.
- [9] WU Q, YANG B, CAO C, et al. Therapeutic antibody directed osteogenic differentiation of induced pluripotent stem cells derived MSCs [J]. Acta Biomater, 2018, 74: 222-235.
- [10] LIU X, LI Q, NIU X, et al. Exosomes secreted from human-induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells prevent osteonecrosis of the femoral head by promoting angiogenesis [J]. Int J Biol Sci, 2017, 13(2): 232-244.
- [11] XU X, SHI D, LIU Y, et al. *In vivo* repair of full-thickness cartilage defect with human iPSC-derived mesenchymal progenitor cells in a rabbit model [J]. Exp Ther Med, 2017, 14(1): 239-245.
- [12] LI CL, LENG Y, ZHAO B, et al. Human iPSC-MSC-derived xenografts modulate immune responses by inhibiting the cleavage of caspases [J]. Stem Cells, 2017, 35(7): 1719-1732.
- [13] LIANG Y, CHEN S, YANG Y, et al. Vasoactive intestinal peptide alleviates osteoarthritis effectively via inhibiting NF- κ B signaling pathway [J]. J Biomed Sci, 2018, 25(1): 25.
- [14] DRIBAN JB, DAVIS JE, LU B, et al. Accelerated knee osteoarthritis is characterized by destabilizing meniscal tears and pre-radiographic structural disease burden [J]. Arthritis & Rheumatology, 2018. DOI:10.1002/art.40826.
- [15] PELLETIER JP, JOVANOVIĆ D, FERNANDES JC, et al. Reduced progression of experimental osteoarthritis in vivo by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase [J]. Arthritis Rheum, 1998, 41(7): 1275-1286.
- [16] MANKIN HJ, JOHNSON ME, LIPPIELLO L. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. III. Distribution and metabolism of amino sugar-containing macromolecules [J]. J Bone Joint Surg Am, 1981, 63(1): 131-139.
- [17] WANG P, ZHAO L, CHEN W, et al. Stem cells and calcium phosphate cement scaffolds for bone regeneration [J]. J Dent Res, 2014, 93(7): 618-625.
- [18] MOSLEM M, VALOJERDI MR, POURNASR B, et al. Therapeutic potential of human induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells in mice with lethal fulminant hepatic failure [J]. Cell Transplant, 2013, 22(10): 1785-1799.
- [19] MEAD TJ, APTE SS. ADAMTS proteins in human disorders [J]. Matrix Biology, 2018, 71/72: 225-239.
- [20] DEJICA VM, MORT JS, LAVERTY S, et al. Cleavage of type II collagen by cathepsin K in human osteoarthritic cartilage [J]. Am J Pathol, 2008, 173(1): 161-169.
- [21] LARKIN J, LOHR TA, ELEFANTE L, et al. Translational development of an ADAMTS-5 antibody for osteoarthritis disease modification [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2015, 23(8): 1254-1266.

(收稿日期:2019-01-17,修回日期:2019-03-04)