

基质诱导的自体软骨细胞移植治疗 膝关节软骨损伤的研究进展

安 勇 王丹亭 岳 宏 戴 刚

摘 要 膝关节软骨损伤在临床中十分常见,且自我修复能力有限。传统的治疗软骨损伤的方法包括微骨折、钻孔术和骨软骨移植等。因创伤大、临床疗效报道不一、组织修复结果较差、供体来源有限等问题,很大程度上限制了传统治疗方法在临床中的应用。第 3 代自体软骨细胞移植-基质诱导的自体软骨细胞移植(matrix-induced autologous chondrocyte implantation, MACI)技术作为对第 1、2 代自体软骨细胞移植技术的改进,不仅具备和第 1、2 代自体软骨细胞移植技术一样良好的临床疗效,而且与传统方法相比还有手术方法简单、微创、手术失败率低、可修复大面积软骨缺损、组织修复结果良好、术后并发症少和可快速康复等优点。尽管第 3 代自体软骨细胞移植技术目前存在些许缺陷,但随着组织工程技术的进步,这些问题都将得到解决。

关键词 膝关节 软骨缺损 基质诱导的自体软骨细胞移植 临床疗效

中图分类号 R6 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.07.045

正常的关节软骨组织主要由基质、纤维和软骨细胞构成。它光滑且具有弹性,能够吸收和均匀分布关节所受应力来维持关节正常功能。由于其没有血管、淋巴、神经等直接的营养供应,一旦损伤,关节软骨自我修复能力极其有限^[1]。临床最常见为的膝关节软骨损伤,常引起关节疼痛、肿胀、绞索等症状,最后导致骨性关节炎的发生^[2]。临床传统修复膝关节软骨损伤的方法有微骨折术、钻孔术、骨软骨移植术等。其修复效果均存在一定的缺陷和弊端。由于传统修复软骨损伤技术存在的无法治疗大面积、全层关节软骨损伤的缺陷促进了自体软骨细胞移植技术的发展。1994 年 Brittberg 首次应用自体软骨细胞移植(autologous chondrocyte implantation, ACI)来治疗大面积、全层关节软骨损伤。此技术自应用以来,目前已更新至第 3 代。第 1 代自体软骨细胞移植(perioosteal covered-autologous chondrocyte transplantation, PACI)即取自体健康的软骨细胞在体外分离培养制成混悬液注射于关节软骨缺损处,并用取自胫骨近端的骨膜瓣缝合固定^[3]。

临床研究发现,采用第 1 代自体软骨细胞移植技

术明显改善了患者关节活动功能、减轻了症状,并且通过组织学检测证实形成了透明样软骨^[3,4]。虽然有很多临床研究得出了令人欣喜的结果,但是 PACI 手术难度高、创伤大、手术费用昂贵及其术后并发症(因骨膜瓣引起的移植物肥大)等问题也使其无法广泛开展^[5,6]。第 2 代自体软骨细胞移植(collagencovered-autologous chondrocyte implantation, CACI)作为对 PACI 的改进,采用 I/III 型双层胶原替代骨膜瓣缝合固定于软骨缺损区。临床实际应用中取得了类似 PACI 的治疗效果并且减少了术后移植物肥大等并发症的发生。然而 CACI 依旧属于开放手术,所带来的创伤仍然不可避免^[7]。第 3 代自体软骨细胞移植技术,即基质诱导自体软骨细胞移植(matrix-induced autologous chondrocyte implantation, MACI)即将体外培养的自体软骨细胞,接种在 I/III 型双分子层胶原膜支架上,并用纤维蛋白胶将其固定在关节软骨缺损处。相对于第 1、2 代自体软骨细胞移植技术而言,第 3 代自体软骨细胞移植技术不仅具有相当甚至优于第 1、2 代自体软骨细胞移植的临床治疗效果而且还简化了手术过程、缩短了手术时间而且避免了之前两代技术的术后并发症和因缝合缺损处所带来的创伤,使手术更加微创化。研究证明胶原膜支架构成的三维空间可以促进软骨细胞的增殖与迁移、提高软骨细胞按照其原始表型表达的稳定性,促进细胞基质的分泌从而增加支架的坚固性。此外,胶原膜还具有有良好的生物相容性和降解性能和宿主整合能力强

基金项目:甘肃省科技重大专项基金资助项目(1203FKDA36)

作者单位:730000 兰州大学(安勇);730000 兰州,甘肃中医药大学(王丹亭);741600 甘肃省秦安县人民医院(岳宏);730050 兰州,甘肃省中医院(戴刚)

通讯作者:戴刚,教授,硕士生导师,电子信箱:daigang60@163.

com

等优点^[8-12]。本文着重就基质诱导的自体软骨细胞移植(MACI)技术在临床中的应用情况进行综述。

一、MACI的临床适应证与禁忌证

临床适应证:患者年龄15~60岁,关节软骨损伤经国际软骨修复协会(ICRS)软骨损伤分级系统评定为Ⅲ~Ⅳ度,关节软骨损伤面积为2~10cm²,经保守治疗无效^[13-15]。临床禁忌证:骨关节炎,风湿性关节炎,膝关节不稳,已经或计划行半月板切除术(半月板切除面积>30%),患者体质指数(BMI)>30,膝关节内翻畸形>3°或者外翻畸形>5°,骨坏死,髌骨发育不良等^[14-17]。

二、MACI手术方法

MACI手术分为两步完成。第1步在关节镜下获取少量患者膝关节非负重区域的健康软骨组织,在体外将标本中分离出的软骨细胞进行培养大约6~8周。在手术第2步进行前3天,将适量软骨细胞(50万~100万软骨细胞/平方厘米)接种在I/Ⅲ型双分子层胶原膜支架上。第2步通过微创关节切开术清除已损伤的软骨组织但不损伤软骨下骨层,采用模具测量软骨缺损处的直径及深度,将接种软骨细胞的I/Ⅲ型双分子层胶原膜支架按照模具所测得的实际大小修剪合适植入软骨缺损处,用纤维蛋白胶粘贴固定。确认移植物固定稳固后闭合切口^[18, 19]。

三、MACI临床应用效果

Ebert等^[18]对47例膝关节软骨损伤患者进行了MACI术,患者年龄18~65岁,术后2年随访,85%的患者膝关节疼痛症状明显改善并可独立进行正常的日常活动。并有62%的患者可以参加体育运动。形态学检测即MRI检查结果示,术后2年,78.7%的患者移植物修复缺损>50%,其中40.6%的患者移植物已完全修复软骨缺损并于正常软骨在MRI图像上表现无异。Meyerkort等^[13]采用MACI治疗23例膝关节软骨损伤患者,患者平均年龄42.3岁,软骨损伤分级Ⅲ~Ⅳ(ICRS),软骨损伤面积平均为3.5cm²,术后5年随访MRI检查结果示,32%的患者膝关节软骨缺损已完全修复,50%的患者移植物修复软骨缺损>50%。临床疗效术前至术后5年经膝关节损伤与骨关节炎(KOOS)评分:疼痛评分60.0~80.6($P=0.000$);其他症状评分62.4~84.0($P=0.000$);日常活动能力69.3~88.3($P=0.000$);体育运动23.0~50.2($P=0.000$);生活质量19.5~50.8($P=0.000$)。经健康调查简表SF-36评分36.4~45.1($P=0.000$),经6min步行试验(6MWT)评分570~

590m($P=0.000$)。Gille等^[20]对57例膝关节软骨损伤的患者实施了MACI术,患者平均年龄37.3岁,软骨损伤分级Ⅲ~Ⅳ(ICRS)软骨损伤面积平均为3.4cm²。分别于术后12及24个月随访,VAS由平均基础值到术后1年平均改善了 4.2 ± 2.6 ($P=0.000$),从术后1年~术后2年平均改善了 0.5 ± 2.3 ($P=0.003$),从基础值到术后2年共改善了 4.7 ± 2.7 ($P=0.000$)。同时,Lysholm评分由术前的 50.1 ± 19.6 分(9~79)提高到术后1年平均 9.9 ± 21.2 分(17~100, $P=0.000$)到术后2年的平均 85.2 ± 18.4 分(27~100, $P=0.002$)。并且认为体重、性别、有无手术史及软骨缺损面积的大小均与所得结果无关。而相比年老的患者,年轻患者术后2年VAS评分情况改善较明显。

Basad等^[21]采用MACI对65例进行膝关节软骨损伤治疗,患者年龄32岁,软骨损伤面积平均为3~10cm²。在术后6、12、24、60个月采用Lysholm评分标准及Tegner膝关节运动标准进行评分。术后6个月65例患者全部接受了随访,在术后12个月及24个月有61例患者接受随访、术后60个月25例患者接受随访。Lysholm评分平均从术前的51.9/52.0提高到术后6个月84.7/90.0,术后12个月90.0/93.0,术后24个月88.1/94.0,术后60个月85.4/95.0。Tegner膝关节运动标准评分从术前的Ⅱ级提高到术后6月Ⅲ级,术后12、24、60个月保持在Ⅳ级。可以看出术后6个月内患者情况改善最为明显而且这种改善一直持续到术后5年。Dai等^[22]对7例膝关节全层软骨损伤采用MACI进行治疗,患者平均年龄16.6岁,平均软骨损伤面积为7.1cm²,经ICRS标准评定为Ⅲ~Ⅳ损伤。术后1年随访,7例患者关节疼痛、肿胀明显减轻,绞索症状完全消失。KOOS、IKDC评分也明显改善。MRI示6例患者移植物表面完整,与自生软骨表现相同且无移植物肥大的问题出现。Zhang等^[23]对20例膝关节软骨损伤进行MACI治疗,患者平均年龄33.9岁,平均软骨损伤面积为4.01cm²。术后12、24个月采用KOOS评分标准进行评分:术后12个月>70,术后24个月>80。MRI检查显示,术后12个月软骨缺损区域已完全修复,移植物与宿主整合良好,并与周围呈等信号,软骨下骨接近正常。术后24个月90%的移植物完全修复缺损,95%的移植物与周围呈等信号,88%患者的移植物与宿主整合良好,60%的患者软骨下骨表现完整。关节镜检查发现新形成的修复组织与正常健康的软骨具

有一样的色泽和硬度。组织学观察通过阿辛蓝染色及 HE 染色证实修复组织主要为透明样软骨混合少量透明 - 纤维软骨。

MACI 也可结合其他手术来治疗临床中一些复杂病例。Bauer 等^[24]采用 MACI 结合胫骨平台高位截骨术治疗了 18 例膝关节内侧间室软骨损伤伴内翻畸形的患者。患者平均年龄 47 岁,软骨损伤面积平均为 6cm^2 ,经 ICRS 标准评分软骨损伤为 II ~ III,内翻畸形平均为 6° 。术后经 KOOS 评分标准评分,100% 的患者在术后 24 个月评分情况明显改善并维持到术后 36 个月,89% 的患者在术后 60 个月评分情况明显改善。89% 的患者内翻畸形被纠正。6min 步行试验(6MWT),术后 36 个月明显增加。MRI 组合评分,术后 12、24 个月评分结果良好,而术后 36、60 个月评分结果略差。肉眼及组织学观察,移植物已完全修复软骨缺损,阿辛蓝染色证实修复组织为透明样软骨。

有研究者将 MACI 技术与传统修复软骨缺损的方法进行了比较。Saris 等^[19]将 MACI 与微骨折法进行比较。144 例患者,平均年龄 33.8 岁,软骨损伤面积平均为 4.8cm^2 软骨损伤经 Outerbridge 分级为 III ~ IV。随机分组,MACI 组 72 例,微骨折组 72 例。术后 2 年临床疗效采用 KOOS 评分标准进行评分,MACI 组明显优于微骨折组。术后 2 年组织修复评估:经关节镜观察,MACI 组 76% 的患者软骨缺损修复结果正常或接近正常,而微骨折组则为 60%。MRI 检查示:MACI 组 83% 的患者和微骨折组 77% 的患者修复软骨缺损深度 $>50\%$ 。治疗失败发生率:微骨折组为 31.9%,MACI 组为 12.5%。并且认为在治疗软骨损伤面积 $>3\text{cm}^2$ 时,MACI 临床疗效优于微骨折。

四、康复计划

根据目前已有的软骨损伤、关节负重康复训练的原则和第 1、2 代自体软骨细胞移植术后的康复训练并结合 MACI 手术较前两代技术所具有的技术优势,Edwards 等^[11]提出了 MACI 术后康复训练计划,术后 1 周患膝关节可进行部分负重($<20\%$ 患者体重),逐渐增加直至术后 12 周才可完全负重。持续被动运动(CPM)机在术后 12 ~ 24h 开始用于患膝关节 $0^\circ \sim 30^\circ$ 的关节活动度锻炼,每天至少 1h,持续 1 周(必要时可延长),起到预防术后关节内粘连和提高修复组织的质量的作用。主动膝关节活动度锻炼应从术后第 1 天开始到术后 7 周恢复最大活动度为止。术后 2 周开始进行股四头肌等长收缩训练。术后 9 个月

可进行对关节冲击力较小体育运动,如游泳、滑雪、滑冰等。跳远和跑步等对关节冲击力较大的运动应在术后 9 ~ 12 个月,而像足球、篮球、乒乓球等对关节冲击力大、有剪切力和产生关节扭转负荷的运动应在术后 12 ~ 18 个月才可进。

近年来有研究者认为相对于第 1、2 代技术,MACI 应该缩短关节负重训练计划周期^[25]。已有临床研究证实了 MACI 术后缩短关节负重训练周期可提高短中期临床疗效且对修复组织无损伤。然而 Edwards 等^[11]认为年老的患者不具备年轻患者的较强的组织修复能力,快速康复训练只适用于年轻患者。总而言之,术后康复训练应根据患者之间的个体差异、软骨缺损的大小和位置、患者先前的运动能力等因素来进行适当的调整。

五、展 望

第 3 代自体软骨细胞移植技术 - 基质诱导的自体软骨细胞移植(matrix - induced autologous chondrocyte implantation, MACI)自临床应用以来取得了良好的短中期疗效,已经成为国内外普遍认可的一种有效且安全性高的修复软骨缺损的治疗方法。相比于其他修复软骨缺损的方法,MACI 技术具有手术方法简单、微创、手术失败率低、组织修复结果好、术后并发症少和可快速康复等优点。但是 MACI 手术费用昂贵、软骨细胞来源有限、需要二次手术、缺乏临床长期疗效随访等这些问题使得其在临床广泛应用受到了阻碍。近年来,随着组织工程技术的进步,一方面成本低且利于接种细胞生长、分化的可降解生物材料支架替代现用的造价昂贵的胶原膜支架已成为可能。另一方面,对于人间充质干细胞体外诱导分化为软骨细胞的持续研究,也让我们看到了解决软骨细胞来源有限这个难题的希望。总体来说,MACI 技术还有很大的改进空间,在将来或成为临床治疗膝关节软骨缺损的首选方法。

参考文献

- 1 Raimondi MT, Bonacina E, Candiani G, *et al.* Comparative chondrogenesis of human cells in a 3D integrated experimental - computational mechanobiology model[J]. Biomech Model Mechanobiol, 2011, 10(2): 259 - 268
- 2 Heir S, Nerhus TK, Rotterud JH, *et al.* Focal cartilage defects in the knee impair quality of life as much as severe osteoarthritis: a comparison of knee injury and osteoarthritis outcome score in 4 patient categories scheduled for knee surgery[J]. Am J Sports Med, 2010, 38(2): 231 - 237
- 3 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

- 4 Farr J. Autologous chondrocyte implantation improves patellofemoral cartilage treatment outcomes[J]. Clin Orthop Relat Res, 2007, 463: 187 – 194
- 5 Marlovits S, Striessnig G, Resinger CT, *et al.* Definition of pertinent parameters for the evaluation of articular cartilage repair tissue with high – resolution magnetic resonance imaging [J]. Eur J Radiol, 2004, 52(3): 310 – 319
- 6 Marlovits S, Zeller P, Singer P, *et al.* Cartilage repair: generations of autologous chondrocyte transplantation [J]. Eur J Radiol, 2006, 57(1): 24 – 31
- 7 Brittberg M. Cell carriers as the next generation of cell therapy for cartilage repair; a review of the matrix – induced autologous chondrocyte implantation procedure[J]. Am J Sports Med, 2010, 38(6): 1259 – 1271
- 8 Roelofs AJ, Rocke JPJ, Bari CD. Cell – based approaches to joint surface repair; a research perspective[J]. Osteoarth Cartil, 2013, 21(7): 892 – 900
- 9 Nawaz SZ, Bentley G, Briggs TW, *et al.* Autologous chondrocyte implantation in the knee: mid – term to long – term results[J]. J Bone Joint Surg Am Vol, 2014, 96(10): 824 – 830
- 10 Enea D, Cecconi S, Busilacchi A, *et al.* Matrix – induced autologous chondrocyte implantation (MACI) in the knee[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2012, 20(5): 862 – 869
- 11 Edwards PK, Ackland T, Ebert JR. Clinical rehabilitation guidelines for matrix – induced autologous chondrocyte implantation on the tibiofemoral joint[J]. J Orthop Sports Phys Ther, 2014, 44(2): 102 – 119
- 12 Bartlett W, Skinner JA, Gooding CR, *et al.* Autologous chondrocyte implantation versus matrix – induced autologous chondrocyte implantation for osteochondral defects of the knee: a prospective, randomised study[J]. J Bone Joint Surg Br, 2005, 87(5): 640 – 645
- 13 Meyerkort D, Ebert JR, Ackland TR, *et al.* Matrix – induced autologous chondrocyte implantation (MACI) for chondral defects in the patellofemoral joint[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2014, 22(10): 2522 – 2530
- 14 Vijayan S, Bartlett W, Bentley G, *et al.* Autologous chondrocyte implantation for osteochondral lesions in the knee using a bilayer collagen membrane and bone graft a two – to eight – year follow – up study[J]. Bone Joint J, 2012, 94(4): 488 – 492
- 15 Siclari A, Mascaro G, Gentili C, *et al.* A cell – free scaffold – based cartilage repair provides improved function hyaline – like repair at one

year[J]. Clin Orthopaed Relat Res, 2011, 470(3): 910 – 919

- 16 Zhang Z, Zhong X, Ji H, *et al.* Matrix – induced autologous chondrocyte implantation for the treatment of chondral defects of the knees in Chinese patients[J]. Drug Design De The, 2014, 8: 2439 – 2448
- 17 Basad E, Wissing FR, Fehrenbach P, *et al.* Matrix – induced autologous chondrocyte implantation (MACI) in the knee: clinical outcomes and challenges[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2014, 23(12): 1 – 7
- 18 Ebert JR, Fallon M, Smith A, *et al.* Prospective clinical and radiologic evaluation of patellofemoral matrix – induced autologous chondrocyte implantation[J]. Am J Sports Med, 2015, 43(6): 1362 – 1372
- 19 Saris D, Price A, Widuchowski W, *et al.* Matrix – applied characterized autologous cultured chondrocytes versus microfracture: two – year follow – up of a prospective randomized Trial[J]. Am J Sports Med, 2014, 42(6): 1384 – 1394
- 20 Gille J, Behrens P, Volpi P, *et al.* Outcome of autologous matrix induced chondrogenesis (AMIC) in cartilage knee surgery: data of the AMIC registry[J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2013, 133(1): 87 – 93
- 21 Basad E, Wissing FR, Fehrenbach P, *et al.* Matrix – induced autologous chondrocyte implantation (MACI) in the knee: clinical outcomes and challenges[J]. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 2015, 23(12): 3729 – 3735
- 22 Dai XS, Cai YZ. Matrix – induced autologous chondrocyte implantation addressing focal chondral defect in adolescent knee[J]. Chinese Med J, 2012, 125(22): 4130 – 4133
- 23 Zhang Z, Zhong X, Ji H, *et al.* Matrix – induced autologous chondrocyte implantation for the treatment of chondral defects of the knees in Chinese patients[J]. Drug Des Devel Ther, 2014, 8: 2439 – 2448
- 24 Bauer S, Khan RJ, Ebert JR, *et al.* Knee joint preservation with combined neutralising high tibial osteotomy (HTO) and Matrix – induced Autologous Chondrocyte Implantation (MACI) in younger patients with medial knee osteoarthritis: a case series with prospective clinical and MRI follow – up over 5 years[J]. Knee, 2012, 19(4): 431 – 439
- 25 Wondrasch B, Risberg MA, Zak L, *et al.* Effect of accelerated weightbearing after matrix – associated autologous chondrocyte implantation on the Femoral Condyle: a prospective, randomized controlled study presenting MRI – based and clinical outcomes after 5 years[J]. Am J Sports Med, 2009, 37(1): 146 – 153

(收稿日期: 2016 – 10 – 30)

(修回日期: 2016 – 11 – 28)

(上接第 170 页)

- 8 Barber L, Hastings – lson T, Baker R, *et al.* The effects of botulinum toxin inaction frequency on calf muscle growth in young children with spastic cerebral palsy: a 12 – month prospective study[J]. J Child orthop, 2013, 7(5): 425 – 433
- 9 林波, 谢鸿翔, 刘楠, 等. 肉毒素治疗脑瘫患儿小腿三头肌痉挛的疗效观察[J]. 中国康复, 2013, 28(6): 370 – 371
- 10 李金玲, 徐开寿, 李翠玲, 等. A 型肉毒毒素与靳三针治疗痉挛型双瘫脑瘫患儿尖足步态的疗效观察[J]. 标记免疫分析与临床, 2012, 19(3): 156 – 159
- 11 蔡淑英, 彭桂兰. 不同定位方式下肉毒素治疗儿童痉挛型脑瘫上

肢功能的疗效[J]. 中国优生与遗传杂志, 2013, 21(4): 150 – 151

- 12 Papavasiliou AS, Nikaina I, Foska K, *et al.* Safety of botulinum toxin A in children and adolescents with cerebral palsy in a pragmatic setting[J]. Toxins: Basel, 2013, 5(3): 524 – 536
- 13 邹小英, 石坚, 方素珍, 等. 多种定位方式下 A 型肉毒毒素肌肉注射治疗小儿脑瘫肌痉挛的疗效[J]. 广东医学, 2013, 34(6): 882 – 884
- 14 贡国俊, 魏道儒, 曹建国, 等. A 型肉毒毒素注射配合综合康复训练治疗痉挛型偏瘫型脑瘫患儿临床分析[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2014, 17(11): 4 – 6

(收稿日期: 2016 – 10 – 31)

(修回日期: 2016 – 11 – 18)