

组织工程支架应用于关节软骨修复的研究进展

刘俊豪, 熊永斌, 何永好, 李春亮*

青海省人民医院, 青海 西宁

收稿日期: 2022年10月3日; 录用日期: 2022年10月27日; 发布日期: 2022年11月7日

摘要

软骨损伤(cartilage damage)在骨科临床上是十分常见的疾病之一。由于关节软骨组织内既无神经也无血管供应, 同时缺乏淋巴回流, 使软骨自我修复十分有限。关节软骨的损伤可导致关节疼痛、畸形、关节活动功能受限进而发展为骨性关节炎。基于目前组织工程在充分利用支架材料、种子细胞、生长因子等方面表现出巨大潜能, 组织工程技术为骨软骨再生修复取得了理想的成果。文章就近年来对组织工程支架关节软骨修复进行简单综述, 报道如下。

关键词

组织工程, 支架, 软骨修复

Advances in the Application of Tissue Engineering Scaffolds for Articular Cartilage Repair

Junhao Liu, Yongbin Xiong, Yonghao He, Chunliang Li*

Qinghai Provincial People's Hospital, Xining Qinghai

Received: Oct. 3rd, 2022; accepted: Oct. 27th, 2022; published: Nov. 7th, 2022

Abstract

Cartilage damage is a very common disease in orthopedic practice. However, the ability of cartilage to self-repair is limited due to the insufficiency of nerve and vascular supply as well as lymphatic flow. Injury to articular cartilage can lead to joint pain, deformity, limited joint movement and then to osteoarthritis. Based on the great potential of tissue engineering to make full use of

*通讯作者。

scaffold materials, seed cells, and growth factors, tissue engineering techniques have achieved desirable results for osteochondral regeneration and repair. The article provides a brief review of literature in recent years on tissue engineering in articular cartilage repair, which is reported below.

Keywords

Tissue Engineering, Brackets, Cartilage Repair

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

软骨损伤(cartilage damage)在骨科临床上是十分常见的疾病之一。长期的磨损、创伤以及肥胖、糖尿病、结核等慢性代谢性因素都会导致关节软骨受损或造成不可逆的损伤[1]。关节软骨本身具有弹性及变形能力,在运动时可起到吸收及缓冲应力减的作用从而保护关节[2]。由于关节软骨组织内既无神经也无血管供应,同时缺乏淋巴回流,其营养只能从关节液获得,导致其营养代谢缓慢,自身修复能力十分有限,一旦发生损伤超过再生界限时,将难以完全再生修复[2]。有研究显示,缺损区域面积小的较缺损区域面积大的有更好的修复效果,一般直径 < 3 mm 的缺损有很多可能被完全修复,而直径 > 3 mm 则很难被完全修复[3] [4]。因此关节软骨的损伤导致关节疼痛、畸形、关节活动功能受限进而发展为骨性关节炎(osteoarthritis, OA) [5]。临床上骨关节炎早期的疗法主要以保守治疗为主,而对终末期则主要以关节置换手术为主。外科手术创伤大,假体松动,假体的使用寿命以及其它严重并发症导致二次手术可能[6]。所以非常有必要寻求新的治疗方法去解决关节软骨损伤。

近年来,随着组织工程学的兴起与发展,组织工程软骨缺损成为新的研究热点,为解决骨软骨缺损提供全新的思路及方法[7]。组织工程研究主要包括以下几个要素:理想的种子细胞、支架载体、生长因子以及构建组织或器官的技术和方法。文章从多方面对近年来支架材料、种子细胞应用于关节软骨缺损修复技术进行简单综述,并讨论组织工程技术在软骨修复中的发展。

2. 种子细胞

种子细胞和支架载体在组织工程中是极其重要的因素,二者的选取对组织工程技术具有非常重要的作用及意义[8]。近年来研究的种子细胞主要包括脂肪干细胞、骨髓间充质干细胞、软骨干细胞、人脐带间充质干细胞、胚胎干细胞、骨骼干细胞等,其中通常将脂肪干细胞和骨髓间充质干细胞作为首选的种子细胞运用于组织工程研究。

2.1. 脂肪干细胞

脂肪干细胞来源丰富、取材方便、免疫原性低、增殖速度快、表型稳定、具有多向分化潜能是组织工程骨软骨修复中理想的种子细胞[9]。研究发现,脂肪组织中含有多种类型的细胞,其中包括前脂肪细胞、脂肪细胞、成纤维细胞、内皮细胞和常驻单核细胞、淋巴细胞、血管平滑肌细胞以及巨噬细胞等[10]。2001年,Zuk等人首次从脂肪组织中分离出脂肪干细胞,发现其具有通过诱导分化成成骨、成软骨、成脂肪和神经表型的潜能[11]。其来源的外泌体还可以通过抑制抗炎因子表达,提升巨噬细胞迁移能力等方

式,促进软骨修复,改善骨关节炎。研究发现,脂肪干细胞来源外泌体可以调节软骨细胞中的 Wnt/ β -catenin 信号通路,促进自噬细胞迁移,进而起到软骨修复的作用[12]。Wu 等发现髌下脂肪垫脂肪干细胞来源外泌体可上调 miR-100-5p,抑制 mTOR 的表达,进而对软骨细胞产生保护作用,并改善步态异常[13]。如今,脂肪干细胞已成为干细胞领域中最受欢迎的干细胞群之一,并广泛应用于组织工程研究[14]。

2.2. 骨髓间充质干细胞

研究发现,骨髓间充质干细胞是一种未充分分化的类中胚层细胞,在不同条件下通过诱导因子诱导后可向软骨细胞、脂肪细胞、成骨细胞、肝细胞、内皮细胞、心肌细胞、肌肉、骨髓以及神经细胞等多种组织分化[15]。Park MS [16], Huang X [17]等人研究发现 BMSC 具有优良的软骨修复的性能。但是在科研运用中发现 BMSC 也存在一定缺陷,在体内体外培养实验中发现其更倾向于生长板软骨细胞分化,导致软骨细胞在生长过程中发生肥大甚至死亡,同时组织发生血管化及骨化进而影响关节软骨的修复[18] [19]。有研究证实,靶向调控 BMSC 向软骨细胞分化时添加 FGF9/18、IGF-1 和 BMP-7 等刺激因子能起到促进软骨分化、维持目标表型以及抑制细胞发生肥大避免细胞死亡等[20] [21]。Xue J [22]等人发现,将 BMS 接种于软骨片上即使没有体外预诱导软骨生成,也能实现满意的软骨缺损修复。通过促进 BMSC 的软骨分化或诱导原位的内源性软骨生成能更有效修复关节软骨缺损。

2.3. 软骨干细胞

软骨干细胞存在于软骨表明浅层,其具有向成脂肪细胞、成骨细胞及软骨细胞系等多项分化潜能,同时在软骨细胞生长、发育以及成熟中起十分关键的作用[23] [24]。将具有分化潜能的软骨细胞移植至软骨缺损区域,可起到软骨修复的作用;但由于移植后的软骨细胞可能发生细胞表型变化导致发生去分化现象,同时由于软骨细胞取材及来源受限,体外培育过程缓慢,以上种种问题阻碍了软骨干细胞在组织工程中的广泛应用[25]。

2.4. 骨骼干细胞

骨骼干细胞(SSCs)主要位于生长板和骨外膜的干细胞。是一种具有向成骨、成软骨细胞分化潜能且可不断自我更新的特异性干细胞[26] [27]。SSCs 在不同部位表达的标志物不同,其自我更新能力和成软骨的潜能使 SSCs 在联合复合生物支架材料具有天然骨仿生性、力学性能,成为软骨修复、组织或器官再造的组织工程研究重点[28] [29]。Chan 等人研究发现骨骼干细胞具有向成软骨、成骨及基质细胞分化的潜能,同时 hSSCs 在应对急性骨骼损伤时会产生明显局部扩张,这表明骨骼干细胞对骨骼损伤具有再生修复效应[30]。

2.5. 人脐带间充质干细胞

人脐带间充质干细胞 hUCMSCs 是来源于脐动静脉之间的一种胶质的物质。人脐带间充质干细胞具有自我分化、多向分化的潜能,同时具有来源丰富广泛、对供体无损伤、可塑性极强、无致瘤性和低免疫源性、遗传稳定、采集运输方便、无排斥反应及伦理争议等优点[31] [32]。有研究表明,在体外将其通过加入诱导因子如:转化生长因子(TGF)、维生素 C 等可诱导其成功向分化成软骨细胞是组织工程研究优秀的种子细胞之一[33]。但是 hUCMSCs 的使用还存在一些问题,如分离培养条件、诱导因子及支架材料的选择等。

2.6. 胚胎干细胞

胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)是在胚胎早期中发现的一种具有体外自我分化、发育全能性

的高度未分化细胞，是组织工程再生修复的种子细胞之一。胚胎干细胞在特定的培养条件及联合细胞因子的作用下，可以定向分化为骨细胞。Oldershaw [34]等人使用已知基质蛋白和补充了外源性生长因子的培养基，引导 HESCs 通过中间的发育成功诱导胚胎干细胞促进软骨细胞分化。McKee [35]等利用三维支架材料在体外培养胚胎干细胞同时通过压力刺激，促使其成功向软骨细胞分化。但是胚胎干细胞广泛使用仍存在一定的局限性，致癌风险、疾病传播以及免疫排斥等。

3. 支架材料

组织工程支架材料包括天然生物材料及人工合成材料，二者均存在一定的局限性，二者的复合材料则可扬长避短，起到相互促进等作用，发挥其优秀的生物学性能。在骨软骨组织工程修复中性能优异的支架材料起着至关重要的作用。优异的支架材料具备良好的细胞粘附性、降解性、组织相容性以及有利营养物质和生长因子传递、同时需具备适宜的孔隙率、孔径及比表面积。

3.1. 天然生物材料

研究发现天然生物材料因其拥有低免疫原性、优良的组织相容性、可降解性、无毒性、合适的孔隙孔径以及无异物反应等优点，其被广泛运用于组织工程仿生支架的研发使用。常用的天然组织工程支架材料包括：胶原、壳聚糖、明胶、透明质酸、丝素蛋白、硫酸软骨素、纤维蛋白、藻酸盐等。

3.1.1. 胶原

胶原是一种天然高分子材料，其具有良好的生物可降解性、低抗原性、组织相容性、生物力学性能以及再生分化潜能，同时其还可降低软骨剪切应力和获得良好的生物力学特性是组织工程应用的优异的支架材料[36]。纯胶原三维支架缺乏维持完整的生物力学性能，故不直接作为骨软骨替代材料使用，通常将其与其他材料交。YU [37]等人利用聚糖通过化学反应与鹿茸来源的胶原蛋白交联并冻干获得多孔支架修复小鼠颅骨缺损，且小鼠颅骨缺损得到了优良的修复效果。Nehrer [38]等人将犬软骨细胞种子播种到牛皮制成的胶原蛋白-糖胺聚糖(GAG) I型和猪软骨制成的 II型胶原蛋白的多孔支架，结果发现 II型海绵中具有球形形态的细胞比例明显较高，与软骨细胞的形态一致。表明 II型胶原基质可给细胞提供优良的生长环境，更有利于软骨细胞的再生修复。但是由于胶原来源主要从动物身上提取，移植后存在一定的免疫排斥及感染等风险。因此通过基因工程改造技术研发了重组胶原蛋白，其具有亲水性好、免疫排斥低、安全性高等优点，完美弥补了动物胶原蛋白的缺点，广泛应用与组织工程研究。

3.1.2. 壳聚糖及其衍生物

甲壳素通过脱乙酰化得到的产物即为壳聚糖。聚糖是一种具有良好生物可降解性、吸水性、亲水性、无毒性、良好组织相容性及无免疫原性生物材料[39]。研究发现通过对壳聚糖适度改性降低其结晶度，从而增加其在组织工程领域的应用，常见的改性方法有聚合物接枝法、小分子接枝法以及交联法等[40]。Chameettachal [41]等人通过壳聚糖微粒子加固丝绸基质提供创造弹性基质以支持软骨细胞的生长，发现山羊软骨细胞在丝素壳聚糖支架上增殖生长良好，有效提高软骨再生能力。Boukari [42]等人利用多孔的 PLGA 和负载蛋白质的 PLGA/壳聚糖微球配制了一种双重应用支架，发现该支架与复合间充质干细胞后可明显促进细胞的成骨分化。通过这些研究表明，壳聚糖可通过与其它材料复合形成新的支架材料，降低复合支架的降解速率，促进细胞增殖分化，明显促进成骨细胞生成是组织工程骨软骨支架常用的材料。

3.1.3. 透明质酸

透明质酸存在于人体结缔组织中，是一种天然衍生的生物材料。透明质酸具有调节基质和组织中水分的生理功能[43]。研究发现，透明质酸具有增加胶原复合支架吸水性、降解性以及生物力学性能等特点。

当透明质酸与细胞受体结合时可促进间充质细胞迁移、分化及炎症细胞因子表达,显著促进移植区域的血管内皮细胞再生和胶原沉积,大大提高细胞的增殖、分化和细胞基质的生长[44] [45]。

3.1.4. 海藻酸盐

海藻酸盐是从海带、马尾藻等褐藻中提取出来的一种水溶性线性多糖高分子材料。海藻酸盐来源丰富广泛,具有优良的生物组织相容性、生物降解性、高黏附性、力学性能以及可塑性等可为细胞及生长因子提供合适载体,已广泛用于组织工程材料研究及食品领域[46]。海藻酸盐水凝胶不管是离子成胶还是光交联成胶,均存在机械强度或成骨诱导能力不足问题,可通过引入成骨相关的阳离子,或引入骨形成相关生长因子,或作为基因传递载体。Catanzano [47]等人将锶与钙结合使用,作为海藻酸盐链的交联剂和成骨分化的增强剂,将内部凝胶化技术与气体发泡相结合,再进行冷冻干燥,研发出具有高孔隙率和互连性结构的海藻酸盐泡沫(MAFs),该项研究表明海藻酸钠复合支架具有促进人类间充质干细胞(hMSCs)的生长增殖和成骨分化的作用。孙磊[48]等人将海藻酸钠凝胶复合异种骨构建骨组织工程支架载体,与单纯的支架相比这种搭复合支架能最大限度承载细胞,生物性能好,在体内具有良好的成骨效率。Mahapatra [49]等人制备了以海藻酸盐-透明质酸的水凝胶支架,加入了 I 型胶原蛋白制备成 Alg-HA-Col 复合水凝胶,再将大鼠的初级软骨细胞负载于水凝胶支架进行培养,在 21 d 内细胞增殖活跃,硫酸化糖胺聚糖(一种软骨特异性基质分子)的分泌量更高,成软骨基因细胞表型 mRNA 水平、SOX9、II 型胶原蛋白和 aggrecan 显著上调。以上等研究表明海藻酸钠是一种优良的生物支架材料。

3.2. 人工合成无机材料

3.2.1. 羟基磷灰石

研究发现羟基磷灰石(HA)具有良好的生物活性及物理特性且与人骨骼无机物质类似。羟基磷灰石具有优良的骨传导性,骨亲和力、成骨诱导性以及良好的生物相容性和稳定性,是组织工程应用中出色的支架材料。但由于传统的羟基磷灰石颗粒较大、大小不均、力学性能较差、韧性低、降解速度缓慢等缺点,逐渐被新型纳米羟基磷灰石代替成为组织工程领域常用的材料[50]。Yu [51]等人通过仿生方法建立了新型的纤维内矿化胶原蛋白/羟基磷灰石支架,同时加入铁、锰两种微量元素,发现支架的成骨诱导性显著增强,且观察到其对 BMSCs 体内及体外成骨都有明显促进作用。Shakir [52]等人通过共沉淀法制造纳米羟基磷灰石/壳聚糖-罗望子多糖(n-HA/CS-TSP)纳米复合材料,发现 n-HA 颗粒的粒径更小、分散均匀、显示出最多孔和最粗糙的表面,同时其热稳定性强,抗压强度以及模量最高,可成为骨组织工程研究中更优良的代替材料。

3.2.2. 磷酸三钙

磷酸三钙(tertiary calcium phosphate, TCP)是磷酸钙陶瓷的一种其化学成分和羟基磷灰石相似。磷酸三钙具有合适孔隙率、骨传导性以及生物相容性和可完全降解性,能显著促进组织血管化,同时还能增强对细胞的粘附,促进细胞的分化和增殖[53]。Shim [54]等人利用聚己内酯(PCL)/聚(乳酸-乙醇酸)(PLGA)支架与磷酸三钙(TCP)混合的治疗兔子小腿骨缺损的,4 w 和 8 w 周时组织学检测发现骨密度显著增高,研究表明 PCL/PLGA/TCP 支架对兔子骨质缺损的有明显的促进修复作用。Terranova [55]等人使用 TPC 复合支架治疗小鼠骨缺损动物模型进行实验取得同样理想修复效果。

4. 人工合成有机材料

人工合成生物材料是通过改变材料聚合度合成的材料,通过改变其内在结构以及生物学性能从而达到促进骨软骨修复效果。人工合成生物材料包括聚乙二醇(PEG)、聚乳酸(PLA)、聚乙烯醇(PVA)、聚

己内酯、聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)等。人工合成材料比天然材料更有优势,其来源广泛,材料质地均一,低免疫排斥反应,同时具有良好可塑性、无毒性、良好的生物降解性及组织相容性是一种优良的支架材料。目前运用较为广泛的包括有聚己内酯、聚乙二醇(PEG)、聚乳酸、聚羟基乙酸及其共聚物(PLGA)等。

4.1. 聚己内酯(Polycaprolactone, PCL)

聚己内酯是人工合成的有机材料,其具有良好的热稳定性、组织相容性、高度可塑性、低生物活性,是优秀的细胞支架材料。Yao [56]等人制备了三维多孔聚己内酯(PCL)-羟基磷灰石(HA)支架负载骨髓凝块(MC),通过体内体外实验表明该支架尺寸及力学都极其稳定,显著促进细胞粘附、增殖和软骨分化,同时该支架细胞DNA含量、Sox9和RunX2表达、软骨裂隙样细胞和ECM积聚都明显提高。Zhou等[57]构建的PCL复合细胞支架能够显著促进组织重塑和神经营养因子分泌,同时明显改善了大鼠动物模型运动功。

4.2. 聚乳酸(Polylactic Acid, PLA)

聚乳酸(PLA)具有优良的力学性能、机械强度和生物降解性能,且具有一定的抗菌性。但由于细胞黏附率较低、亲水性差等特点,限制其在组织工程中的应用。研究中常通常将PLA与其它亲水类材料复合制备支架来改善其性能缺点。崔玉明[58]等人通过制备聚乳酸/聚羟基乙酸(poly-lactide-co-glycolide, PLGA)为载体支架复合rhBMP-2和骨髓基质细胞源性软骨细胞修复兔关节软骨缺损,研究表明PLGA降解过程可释放出rhBMP-2诱导骨髓基质细胞向软骨细胞方向分化,从而促进软骨修复。目前很多研究证实该复合材料具有良好的生物学性能被广泛应用于组织工程中。

4.3. 聚乙二醇(Polyethylene Glycol, PEG)

聚乙二醇是一种合成的具有生物降解性以及水溶性的聚醚。Kong [59]等人研究发现聚乙二醇可抵抗神经纤维变性,减少炎症反应;促进血管生成,还能将药物或生物活性分子带到损伤部位,同时可作为干细胞损伤后生长的支撑基质,诱导细胞迁移、增殖和分化。另有研究表明聚乙二醇与软骨细胞混合可促进细胞的粘附、增殖及分化等,由于其良好的生物和材料特性,聚乙二醇是组织工程中良好的生物材料。

5. 复合材料

为了能够弥补单纯生物支架材料的缺陷与不足,常将两种或以上的生物材料通过技术合成复合材料以满足仿生需求。这种复合材料不仅保证材料原有优良特性的,而且能够扬长避短,显著促进种子细胞粘附、增殖和分化,使其功能更加完善全面。

复合材料是指是由两种或以上的材料质组合而成。复合材料不仅能确保原有材料的基本特性同时还可充分发挥其不具备生物特性。Wang [60]等人制备聚乳酸-乙醇酸(PLGA)微球结合的胶原蛋白/丝状纤维素复合支架修复软骨缺损表现出优良的组织相容性、适当的孔隙率和良好的细胞亲和力,可明显促进关节软骨的再生,且修复后的软骨与周围软骨的整合完整良好。Jiang [61]等制备琼脂糖水凝胶和聚乳酸-共聚物(PLGA)和45S5生物活性玻璃(BG)的复合微球的支架,发现该复合支架优化PLGA的力学性能,可相互促进软骨细胞的矿化潜力。Chiu [62]等, Wang [63]等通过3D打印技术来制备纳米复合支架,通过3D技术调控材料的孔径、强度韧性和孔隙等,明显提高了生物材料的性能、更有利于细胞粘附、增殖、分化、改善细胞代谢等。

研究表明,在复合材料中添加生长因子可促进细胞生长、分化、成血管或成骨能力。Liu [64]等将羟基磷灰石表面进行优化并负载BMP-2可以显著增强生物活性使生物玻璃支架(19-39)在骨质缺损处再生骨

的能力明显提高。Azizian [65]等制备壳聚糖纳米颗粒负载碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)和牛血清白蛋白(BSA)支架,发现其可影响支架的物理性能,使生长因子持续缓释,显著增强成纤维细胞的增殖,促进血管生成。Kuttappan [66]等研发了一种负载成纤维细胞生长因子 2、血管内皮生长因子和骨形态发生蛋白 2 的纳米复合纤维支架,研究发现不管在体内还是体外,生长因子均可释放,但只有负载的 BMP2 生长因子的支架才有促进新骨形成。支架材料负载一种或多种生长因子,同样可以发挥生长因子在促进细胞生长、增殖分化或促进成骨软骨分化的作用。

6. 展望

组织工程技术以及高分子材料技术推动医疗技术的发展进步。骨缺损、关节软骨缺损仍然是骨外科研究热点、重点和难点。近年来随着组织工程的发展,在骨软骨缺损修复方面取得巨大进步,但是应用到实践中仍有许多问题需要解决。研发出具有优良生物组织相容性、合适孔隙率、可降解性以及优良的生物力学性能和再生优良的仿生支架材料,以实现骨软骨理想修复仍是巨大的挑战。文章总结了目前在组织工程中较为常用的支架材料及种子细胞;因为这是组织工程仿生支架代替物能否取得成功的前提条件。一些研究者通过在材料中负载微量元素、药物、生长因子、种子细胞等来促进细胞成骨、成软骨分化也取得一定的成果。但目前暂未找到一种能代替原有组织的仿生材料用于再生和修复,随着组织工程技术以及细胞生物学、材料学的发展,许多具有潜力的材料不断被研发,学者们不断努力与探索,相信组织工程的应用将为骨软骨缺损患者带来福音。

基金项目

青海省科技厅应用基础项目(2019-ZJ-7067)。

参考文献

- [1] Iulian, A., Dan, L., Camelia, T., Claudia, M. and Sebastian, G. (2018) Synthetic Materials for Osteochondral Tissue Engineering. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **1058**, 31-52. https://doi.org/10.1007/978-3-319-76711-6_2
- [2] Chen, H., Sun, T., Yan, Y.F., et al. (2020) Cartilage Matrix-Inspired Biomimetic Superlubricated Nanospheres for Treatment of Osteoarthritis. *Biomaterials*, **242**, Article ID: 119931. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.119931>
- [3] Ebert, J.R., Fallon, M., Smith, A., Janes, G.C. and Wood, D.J. (2015) Prospective Clinical and Radiologic Evaluation of Patellofemoral Matrix-Induced Autologous Chondrocyte Implantation. *American Journal of Sports Medicine*, **43**, 1362-1372. <https://doi.org/10.1177/0363546515574063>
- [4] 代岭辉. 膝关节软骨损伤修复重建指南(2021) [J]. 中国运动医学杂志, 2022, 41(4): 249-259.
- [5] Roseti, L., Desando, G., Cavallo, C., Petretta, M. and Grigolo, B. (2019) Articular Cartilage Regeneration in Osteoarthritis. *Cells*, **8**, Article No. 1305. <https://doi.org/10.3390/cells8111305>
- [6] Boyle, K.K., Kapadia, M., Landy, D.C., Henry, M.W., Miller, A.O. and Westrich, G.H. (2020) Utilization of Debridement, Antibiotics, and Implant Retention for Infection after Total Joint Arthroplasty over a Decade in the United States. *The Journal of Arthroplasty*, **35**, 2210-2216. <https://doi.org/10.1016/j.arth.2020.03.029>
- [7] Grottkau, B.E. and Lin, Y. (2013) Osteogenesis of Adipose-Derived Stem Cells. *Bone Research*, **1**, 133-145. <https://doi.org/10.4248/BR201302003>
- [8] Ji, W.C., Zhang, X.W. and Qiu, Y.S. (2016) Selected Suitable Seed Cell, Scaffold and Growth Factor Could Maximize the Repair Effect Using Tissue Engineering Method in Spinal Cord Injury. *World Journal of Experimental Medicine*, **6**, 58-62. <https://doi.org/10.5493/wjem.v6.i3.58>
- [9] Zuk, P.A., Zhu, M., Ashjian, P., et al. (2002) Human Adipose Tissue Is a Source of Multipotent Stem Cells. *Molecular Biology of the Cell*, **13**, 4279-4295. <https://doi.org/10.1091/mbc.e02-02-0105>
- [10] Bacakova, L., Zarubova, J., Travnickova, M., Musilkova, J., Pajorova, J., Slepicka, P., Kasalkova, N.S., Svorcik, V., Kolska, Z., Motarjemi, H. and Molitor, M. (2018) Stem Cells: Their Source, Potency and Use in Regenerative Therapies with Focus on Adipose-Derived stem Cells—A Review. *Biotechnology Advances*, **36**, 1111-1126. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.03.011>

- [11] Zuk, P.A., Zhu, M., Mizuno, H., *et al.* (2001) Multilineage Cells from Human Adipose Tissue: Implications for Cell-Based Therapies. *Tissue Engineering*, **7**, 211-228. <https://doi.org/10.1089/107632701300062859>
- [12] 赵晨. 脂肪干细胞来源外泌体对膝骨关节炎的疗效及作用机制的研究[D]: [博士学位论文]. 苏州: 苏州大学, 2020.
- [13] Wu, J., Kuang, L., Chen, C., *et al.* (2019) miR-100-5p-Abundant Exosomes Derived from Infrapatellar Fat Pad MSCs Protect Articular Cartilage and Ameliorate Gait Abnormalities via Inhibition of mTOR in Osteoarthritis. *Biomaterials*, **206**, 87-100. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.03.022>
- [14] Desai, V.D., Hsia, H.C. and Schwarzbauer, J.E. (2014) Reversible Modulation of Myofibroblast Differentiation in Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. *PLOS ONE*, **9**, e86865. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086865>
- [15] Charbord, P. (2010) Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells: Historical Overview and Concepts. *Human Gene Therapy*, **21**, 1045-1056. <https://doi.org/10.1089/hum.2010.115>
- [16] Park, M.S., Kim, Y.H., Jung, Y., Kim, S.H., Park, J.C., Yoon, D.S., Kim, S.H. and Lee, J.W. (2015) *In Situ* Recruitment of Human Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Using Chemokines for Articular Cartilage Regeneration. *Cell Transplantation*, **24**, 1067-1083. <https://doi.org/10.3727/096368914X681018>
- [17] Huang, X., Chen, Z., Zhao, G., Shi, J., Huang, G., Chen, F., Wei, Y., Xia, J., Chen, J. and Wang, S. (2020) Combined Culture Experiment of Mouse Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells and Bioceramic Scaffolds. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **20**, Article No. 19. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.9147>
- [18] Mueller, M.B., Fischer, M., Zellner, J., Berner, A., Dienstknecht, T., Prantl, L., Kujat, R., Nerlich, M., Tuan, R.S. and Angele, P. (2010) Hypertrophy in Mesenchymal Stem Cell Chondrogenesis: Effect of TGF-beta Isoforms and Chondrogenic Conditioning. *Cells Tissues Organs*, **192**, 158-166. <https://doi.org/10.1159/000313399>
- [19] Zhang, L., He, A., Yin, Z., Yu, Z., Luo, X., Liu, W., Zhang, W., Cao, Y., *et al.* (2014) Regeneration of Human-Ear-Shaped Cartilage by Co-Culturing Human Microtia Chondrocytes with BMSCs. *Biomaterials*, **35**, 4878-4887. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.02.043>
- [20] Correa, D., Somoza, R.A., Lin, P., Greenberg, S., Rom, E., Duesler, L., Welter, J.F., Yayon, A. and Caplan, A.I. (2015) Sequential Exposure to Fibroblast Growth Factors (FGF) 2, 9 and 18 Enhances hMSC Chondrogenic Differentiation. *Osteoarthritis and Cartilage*, **23**, 443-453. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2014.11.013>
- [21] Peng, X.B., Zhang, Y., Wang, Y.Q., He, Q. and Yu, Q. (2019) IGF-1 and BMP-7 Synergistically Stimulate Articular Cartilage Repairing in the Rabbit Knees by Improving Chondrogenic Differentiation of Bone-Marrow Mesenchymal Stem Cells. *Journal of Cellular Physiology*, **120**, 5570-5582. <https://doi.org/10.1002/jcb.27841>
- [22] Xe, J., He, A., Zhu, Y., Liu, Y., Li, D., Yin, Z., Zhang, W., Liu, W., Cao, Y. and Zhou, G. (2018) Repair of Articular Cartilage Defects with Acellular Cartilage Sheets in a Swine Model. *Biomedical Materials*, **13**, Article ID: 025016. <https://doi.org/10.1088/1748-605X/aa99a4>
- [23] Kozhemyakina, E., Zhang, M., Ionescu, A., Ayturk, U.M., Ono, N., Kobayashi, A., Kronenberg, H., Warman, M.L. and Lassar, A.B. (2015) Identification of a Prg4-Expressing Articular Cartilage Progenitor Cell Population in Mice. *Arthritis & Rheumatology*, **67**, 1261-1273. <https://doi.org/10.1002/art.39030>
- [24] Fellows, C.R., Williams, R., Davies, I.R., Gohil, K., Baird, D.M., Fairclough, J., Rooney, P., Archer, C.W. and Khan, I.M. (2017) Characterisation of a Divergent Progenitor Cell Sub-Populations in Human Osteoarthritic Cartilage: The Role of Telomere Erosion and Replicative Senescence. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 41421. <https://doi.org/10.1038/srep41421>
- [25] Melgarejo-Ramírez, Y., Sánchez-Sánchez, R., García-López, J., Brena-Molina, A.M., Gutiérrez-Gómez, C., Ibarra, C. and Velasquillo, C. (2016) Characterization of Pediatric Microtia Cartilage: A Reservoir of Chondrocytes for Auricular Reconstruction Using Tissue Engineering Strategies. *Cell and Tissue Banking*, **17**, 481-489. <https://doi.org/10.1007/s10561-016-9574-5>
- [26] Chang, H. and Knothe Tate, M.L. (2012) Concise Review: The Periosteum: Tapping into a Reservoir of Clinically Useful Progenitor Cells. *Stem Cells Translational Medicine*, **1**, 480-491. <https://doi.org/10.5966/sctm.2011-0056>
- [27] Uccelli, A., Moretta, L. and Pistoia, V. (2008) Mesenchymal Stem Cells in Health and Disease. *Nature Reviews Immunology*, **8**, 726-736. <https://doi.org/10.1038/nri2395>
- [28] 林茜茜, 张龙, 袁桂鑫, 吴佐星, 冯昊天, 李娜, 许韧. 骨骼干细胞的研究进展[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2022, 61(3): 429-435.
- [29] Gjerde, C., Mustafa, K., Hellem, S., Rojewski, M., Gjengedal, H., Yassin, M.A., Feng, X., Skaale, S., Berge, T., Rosen, A., Shi, X.Q., Ahmed, A.B., Gjertsen, B.T., Schrezenmeier, H. and Layrolle, P. (2018) Cell Therapy Induced Regeneration of Severely Atrophied Mandibular Bone in a Clinical Trial. *Stem Cell Research & Therapy*, **9**, Article No. 213. <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0951-9>
- [30] Chan, C.K.F., Gulati, G.S., Sinha, R., Tompkins, J.V., Lopez, M., Carter, A.C., *et al.* (2018) Identification of the Hu-

- man Skeletal Stem Cell. *Cell*, **175**, 43-56.e21. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.07.029>
- [31] 陈超, 亓建洪, 陈彬. 人脐带间充质干细胞在软骨组织工程中的应用[J]. 中国医学工程, 2015, 23(1): 203-204.
- [32] 汪兆艳, 杨印祥, 王倩, 王彩英, 屈素清, 金慧玉, 栾佐. 人脐带源间充质干细胞体外成脂、成骨、成软骨诱导分化[J]. 转化医学杂志, 2013, 2(6): 329-331+335.
- [33] 张权, 陈恋, 常铖, 张亚奇, 肖翠红, 饶巍, 韩兵, 武栋成. 两种不同的体外诱导人脐带间充质干细胞成软骨细胞方法的比较[J]. 中国细胞生物学学报, 2019, 41(10): 1967-1975.
- [34] Oldershaw, R.A., Baxter, M.A., Lowe, E.T., Bates, N., Grady, L.M., Soncin, F., Brison, D.R., Hardingham, T.E. and Kimber, S.J. (2010) Directed Differentiation of Human Embryonic Stem Cells toward Chondrocytes. *Nature Biotechnology*, **28**, 1187-1194. <https://doi.org/10.1038/nbt.1683>
- [35] McKee, C., Hong, Y., Yao, D. and Chaudhry, G.R. (2017) Compression Induced Chondrogenic Differentiation of Embryonic Stem Cells in Three-Dimensional Polydimethylsiloxane Scaffolds. *Tissue Engineering, Part A*, **23**, 426-435. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2016.0376>
- [36] Yan, L.P., Silva-Correia, J., Oliveira, M.B., Vilela, C., Pereira, H., Sousa, R.A., Mano, J.F., Oliveira, A.L., Oliveira, J.M. and Reis, R.L. (2015) Bilayered Silk/Silk-nanoCaP Scaffolds for Osteochondral Tissue Engineering: *In Vitro* and *In Vivo* Assessment of Biological Performance. *Acta Biomaterialia*, **12**, 227-241. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.10.021>
- [37] Yu, L., Huang, J., *et al.* (2015) Antler Collagen/Chitosan Scaffolds Improve Critical Calvarial Defect Healing in Rats. *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, **5**, 774-779. <https://doi.org/10.1166/jbt.2015.1368>
- [38] Nehrer, S., Breinan, H.A., Ramappa, A., Shortkroff, S., Young, G., Minas, T., Sledge, C.B., Yannas, I.V. and Spector, M. (1997) Canine Chondrocytes Seeded in Type I and Type II Collagen Implants Investigated *In Vitro*. *Journal of Biomedical Materials Research*, **38**, 95-104. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199722\)38:2<95::AID-JBM3>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199722)38:2<95::AID-JBM3>3.0.CO;2-B)
- [39] Shariatinia, Z. (2018) Carboxymethyl Chitosan: Properties and Biomedical Applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, **120**, 1406-1419. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.131>
- [40] Venkatesan, J., Bhatnagar, I. and Kim, S.K. (2014) Chitosan-Alginate Biocomposite Containing Fucoidan for Bone Tissue Engineering. *Marine Drugs*, **12**, 300-316. <https://doi.org/10.3390/md12010300>
- [41] Chameettachal, S., Murab, S., Vaid, R., Midha, S. and Ghosh, S. (2017) Effect of Visco-Elastic Silk-Chitosan Micro-composite Scaffolds on Matrix Deposition and Biomechanical Functionality for Cartilage Tissue Engineering. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, **11**, 1212-1229. <https://doi.org/10.1002/term.2024>
- [42] Boukari, Y., Qutachi, O., Scurr, D.J., Morris, A.P., Doughty, S.W. and Billa, N. (2017) A Dual-Application Poly(dl-lactic-co-glycolic) Acid (PLGA)-Chitosan Composite Scaffold for Potential Use in Bone Tissue Engineering. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, **28**, 1966-1983. <https://doi.org/10.1080/09205063.2017.1364100>
- [43] Feng, W.P., *et al.* (2015) Preparation and Characterization of Collagen-Hydroxyapatite/Pectin Composite. *International Journal of Biological Macromolecules*, **74**, 218-223. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.11.031>
- [44] Kim, I.L., Mauck, R.L. and Burdick, J.A. (2011) Hydrogel Design for Cartilage Tissue Engineering: A Case Study with Hyaluronic Acid. *Biomaterials*, **32**, 8771-8782. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.08.073>
- [45] 魏健, 刘建建, 黄思玲, 李漫, 李霞, 郭学平. 透明质酸交联衍生物的研究进展[J]. 高分子材料科学与工程, 2017, 33(10): 183-190.
- [46] Bidarra, S.J., Barrias, C.C. and Granja, P.L. (2014) Injectable Alginate Hydrogels for Cell Delivery in Tissue Engineering. *Acta Biomaterialia*, **10**, 1646-1662. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.12.006>
- [47] Catanzano, O., Soriente, A., La Gatta, A., Cammarota, M., Ricci, G., Fasolino, I., Schiraldi, C., Ambrosio, L., Malinconico, M., Laurienzo, P., Raucci, M.G. and Gomez d' Ayala, G. (2018) Macroporous Alginate Foams Crosslinked with Strontium for Bone Tissue Engineering. *Carbohydrate Polymers*, **202**, 72-83. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.086>
- [48] 孙磊, 张柏青, 陈磊, 陶剑锋, 江健, 孟国林, 窦榆生, 徐建强, 刘丹平, 胡蕴玉. 海藻酸钠凝胶复合异种骨构建组织工程骨及体内成骨[J]. 中国修复重建外科杂志, 2008, 22(6): 732-736.
- [49] Mahapatra, C., Jin, G.Z. and Kim, H.W. (2016) Alginate-Hyaluronic Acid-Collagen Composite Hydrogel Favorable for the Culture of Chondrocytes and Their Phenotype Maintenance. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, **13**, 538-546. <https://doi.org/10.1007/s13770-016-0059-1>
- [50] Ramesh, N., Moratti, S.C. and Dias, G.J. (2018) Hydroxyapatite-Polymer Biocomposites for Bone Regeneration: A Review of Current Trends. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, **106**, 2046-2057. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33950>
- [51] Yu, L., Rowe, D.W., Perera, I.P., Zhang, J., Suib, S.L., Xin, X. and Wei, M. (2020) Intrafibrillar Mineralized Colla-

- gen-Hydroxyapatite-Based Scaffolds for Bone Regeneration. *ACS Applied Materials and Interfaces*, **12**, 18235-18249. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c00275>
- [52] Shakir, M., Zia, I., Rehman, A. and Ullah, R. (2018) Fabrication and Characterization of Nanoengineered Biocompatible n-HA/Chitosan-Tamarind Seed Polysaccharide: Bio-Inspired Nanocomposites for Bone Tissue Engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, **111**, 903-916. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.035>
- [53] de Freitas Silva, L., de Carvalho Reis, E.N.R., Barbara, T.A., Bonardi, J.P., Garcia, I.R., de Carvalho, P.S.P. and Ponzoni, D. (2017) Assessment of Bone Repair in Critical-Size Defect in the Calvarium of Rats after the Implantation of Tricalcium Phosphate Beta (β -TCP). *Acta Histochemica*, **119**, 624-631. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2017.07.003>
- [54] Shim, J.H., Moon, T.S., Yun, M.J., Jeon, Y.C., Jeong, C.M., Cho, D.W. and Huh, J.B. (2012) Stimulation of Healing within a Rabbit Calvarial Defect by a PCL/PLGA Scaffold Blended with TCP Using Solid Freeform Fabrication Technology. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **23**, 2993-3002. <https://doi.org/10.1007/s10856-012-4761-9>
- [55] Terranova, L., Dragusin, D.M., Mallet, R., Vasile, E., Stancu, I.C., Behets, C. and Chappard, D. (2017) Repair of Calvarial Bone Defects in Mice Using Electrospun Polystyrene Scaffolds Combined with β -TCP or Gold Nanoparticles. *Micron*, **93**, 29-37. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2016.11.001>
- [56] Yao, Q., Wei, B., Liu, N., Li, C., Guo, Y., Shamie, A.N., Chen, J., Tang, C., Jin, C., Xu, Y., Bian, X., Zhang, X. and Wang, L. (2015) Chondrogenic Regeneration Using Bone Marrow Clots and a Porous Polycaprolactone-Hydroxy-apatite Scaffold by Three-Dimensional Printing. *Tissue Engineering, Part A*, **21**, 1388-1397. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2014.0280>
- [57] Zhou, X., Shi, G., Fan, B., Cheng, X., Zhang, X., Wang, X., Liu, S., Hao, Y., Wei, Z., Wang, L. and Feng, S. (2018) Polycaprolactone Electrospun Fiber Scaffold Loaded with iPSCs-NSCs and ASCs as a Novel Tissue Engineering Scaffold for the Treatment of Spinal Cord Injury. *International Journal of Nanomedicine*, **13**, 6265-6277. <https://doi.org/10.2147/IJN.S175914>
- [58] 崔玉明, 伍骥, 胡蕴玉. 聚乳酸/聚羟基乙酸复合骨形成蛋白修复兔关节软骨缺损[J]. 中国修复重建外科杂志, 2007, 21(11): 1233-1237.
- [59] Kong, X.-B., Tang, Q.-Y., Chen, X.-Y., Tu, Y., Sun, S.-Z. and Sun, Z.-L. (2017) Polyethylene Glycol as a Promising Synthetic Material for Repair of Spinal Cord Injury. *Neural Regeneration Research*, **12**, 1003-1008. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.208597>
- [60] Wang, J., Yang, Q., Cheng, N., Tao, X., Zhang, Z., Sun, X. and Zhang, Q. (2016) Collagen/Silk Fibroin Composite Scaffold Incorporated with PLGA Microsphere for Cartilage Repair. *Materials Science & Engineering C—Materials for Biological Applications*, **61**, 705-711. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.097>
- [61] Jiang, J., Tang, A., Ateshian, G.A., Guo, X.E., Hung, C.T. and Lu, H.H. (2010) Bioactive Stratified Polymer Ceramic-Hydrogel Scaffold for Integrative Osteochondral Repair. *Annals of Biomedical Engineering*, **38**, 2183-2196. <https://doi.org/10.1007/s10439-010-0038-y>
- [62] Chiu, Y.C., Fang, H.Y., Hsu, T.T., Lin, C.Y. and Shie, M.Y. (2017) The Characteristics of Mineral Trioxide Aggregate/Polycaprolactone 3-Dimensional Scaffold with Osteogenesis Properties for Tissue Regeneration. *Journal of Endodontics*, **43**, 923-929. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.01.009>
- [63] Wang, C., Zhao, Q. and Wang, M. (2017) Cryogenic 3D Printing for Producing Hierarchical Porous and rhBMP-2-Loaded Ca-P/PLLA Nanocomposite Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Biofabrication*, **9**, Article ID: 025031. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/aa71c9>
- [64] Liu, X., Rahaman, M.N., Liu, Y., Bal, B.S. and Bonewald, L.F. (2013) Enhanced Bone Regeneration in Rat Calvarial Defects Implanted with Surface-Modified and BMP-Loaded Bioactive Glass (13-93) Scaffolds. *Acta Biomaterialia*, **9**, 7506-7517. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.03.039>
- [65] Azizian, S., Hadjizadeh, A. and Niknejad, H. (2018) Chitosan-Gelatin Porous Scaffold Incorporated with Chitosan Nanoparticles for Growth Factor Delivery in Tissue Engineering. *Carbohydrate Polymers*, **202**, 315-322. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.07.023>
- [66] Kuttappan, S., Mathew, D., Jo, J.I., Tanaka, R., Menon, D., Ishimoto, T., Nakano, T., Nair, S.V., Nair, M.B. and Tabata, Y. (2018) Dual Release of Growth Factor from Nanocomposite Fibrous Scaffold Promotes Vascularisation and Bone Regeneration in Rat Critical Sized Calvarial Defect. *Acta Biomaterialia*, **78**, 36-47. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.07.050>