

# 关节腔注射脐带血单个核细胞治疗膝骨关节炎的相关研究

赵昕<sup>1,2\*</sup>, 刘雨亮<sup>3</sup>, 卓锋<sup>3</sup>, 李军<sup>3</sup>, 张建<sup>3</sup>, 初培罡<sup>3</sup>, 张文正<sup>3</sup>, 魏开斌<sup>3#</sup>

<sup>1</sup>西藏民族大学附属医院骨科, 陕西 咸阳

<sup>2</sup>山东第一医科大学研究生部, 山东 济南

<sup>3</sup>青岛大学附属泰安市中心医院关节运动医学科, 山东 泰安

收稿日期: 2024年3月27日; 录用日期: 2024年4月21日; 发布日期: 2024年4月28日

## 摘要

膝骨关节炎(KOA)是一种严重危害中老年人健康的慢性膝关节退行性疾病, 关节软骨的退变损伤、骨赘异常增生、软骨下骨硬化是其主要的病理改变, 常引起关节疼痛、肿胀、活动受限、僵硬及畸形, 甚至致残, 严重影响患者的生活质量。目前临床上KOA的治疗主要包括保守治疗和手术治疗, 然而其效果均不能令人满意。脐带血单个核细胞(UCB-MNCs)是脐带血中具有单个细胞核的细胞总称, 包含多种异质性细胞群, 如造血干细胞、间充质干细胞、内皮祖细胞、淋巴细胞、单核细胞等。在KOA患者膝关节腔内注射UCB-MNCs, 利用不同细胞间的协同作用, 通过抗炎、调节免疫、修复组织损伤、促进软骨再生等机制, 发挥消除或减轻临床症状、改善关节功能、减少关节退行性变、阻止或延缓病程进展等作用, 且安全性良好。但是, 该方法存在注射剂量、次数、观察指标不统一, 以及缺乏严格的单个核细胞质量控制等问题。本文主要对关节腔注射UCB-MNCs治疗KOA的相关研究作一综述。

## 关键词

关节腔注射, 脐带血单个核细胞, 膝骨关节炎, 软骨损伤

# Related Research on the Treatment of Knee Osteoarthritis with Intra-Articular Injection of Umbilical Cord Blood Mononuclear Cells

Xin Zhao<sup>1,2\*</sup>, Yuliang Liu<sup>3</sup>, Feng Zhuo<sup>3</sup>, Jun Li<sup>3</sup>, Jian Zhang<sup>3</sup>, Peigang Chu<sup>3</sup>, Wenzheng Zhang<sup>3</sup>, Kaibin Wei<sup>3#</sup>

<sup>1</sup>Orthopedics Department of Affiliated Hospital of Xizang Minzu University, Xianyang Shaanxi

\*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 赵昕, 刘雨亮, 卓锋, 李军, 张建, 初培罡, 张文正, 魏开斌. 关节腔注射脐带血单个核细胞治疗膝骨关节炎的相关研究[J]. 临床医学进展, 2024, 14(4): 2202-2211. DOI: 10.12677/acm.2024.1441283

<sup>2</sup>Graduate Department of Shandong First Medical University, Jinan Shandong

<sup>3</sup>Department of Joint Sports Medicine, Central Hospital of Taian, Qingdao University, Taian Shandong

Received: Mar. 27<sup>th</sup>, 2024; accepted: Apr. 21<sup>st</sup>, 2024; published: Apr. 28<sup>th</sup>, 2024

## Abstract

Knee osteoarthritis (KOA) is a chronic degenerative disease of the knee joint that seriously endangers the health of middle-aged and elderly people. The main pathological changes of KOA include degeneration and damage of joint cartilage, abnormal proliferation of osteophytes, and subchondral bone sclerosis, which often cause joint pain, swelling, limited mobility, stiffness, deformity, and even disability, seriously affecting the quality of life of patients. At present, the treatment of KOA in clinical practice mainly includes conservative treatment and surgical treatment, but their effects are not satisfactory. Umbilical cord blood mononuclear cells (UCB-MNCs) are a collective term for cells in cord blood that have a single nucleus and contain various heterogeneous cell populations, such as hematopoietic stem cells, mesenchymal stem cells, endothelial progenitor cells, lymphocytes, monocytes, etc. Injecting UCB-MNCs into the knee joint cavity of KOA patients utilizes the synergistic effect between different cells to eliminate or alleviate clinical symptoms, improve joint function, reduce joint degeneration, prevent or delay disease progression through mechanisms such as anti-inflammatory, immune regulation, repair of tissue damage, and promotion of cartilage regeneration, with good safety. However, this method has some problems, such as inconsistent injection dose, times, observation indicators, and lack of strict quality control of mononuclear cells. This article mainly reviews the relevant research on the treatment of knee osteoarthritis with joint cavity injection of UCB-MNCs.

## Keywords

Intra-Articular Injection, Umbilical Cord Blood Mononuclear Cells, Knee Osteoarthritis, Cartilage Injury

Copyright © 2024 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

骨关节炎(Osteoarthritis, OA)是一种以软骨破坏为特征,由炎症、免疫、机械性、代谢性等因素导致的慢性进行性退行性关节疾病,临床表现主要是关节疼痛、肿胀、活动受限,甚至出现关节僵硬、畸形、残疾等。OA是常见病、多发病,好发于负重大、活动多的关节,如膝、脊柱(颈椎和腰椎)、髌、踝、手等关节。骨关节炎的病理改变主要是关节软骨退变、损伤、缺失[1]、关节边缘骨赘形成、滑膜的增厚增生、肿胀充血以及软骨下骨的硬化或囊性变。OA主要的危险因素包括年龄[2]、性别与种族[3]、肥胖[4]和雌激素缺乏[5]、生活习惯等。OA的病因和发病机制尚不明确,而软骨细胞凋亡、异常生物应力、机械损伤、炎症等均可促进OA的发生、发展[6]。

关节软骨的组成结构特殊,由软骨细胞(5%)和细胞外基质(95%)组成[7],相对较低的细胞密度和密集的水合细胞外基质,使细胞难以迁移到病变部位[8]。软骨细胞外基质成分主要为蛋白多糖和II型胶原,关节软骨内不含血管和神经系统,受到损伤后不具备自我修复能力,软骨受损后随着时间的推移,软骨

细胞功能发生改变,分泌金属蛋白水解酶和炎性因子,使得蛋白多糖降解,细胞外基质组成成分发生改变,软骨合成代谢与分解代谢失调,软骨基质降解[9][10],导致关节软骨病变,最终引发骨关节炎。

OA 主要影响中老年人,流行病学研究显示,在世界范围内,65 岁以上的人群 OA 患病率超过 50%。中国 OA 患病率在 60 岁人群约 50%,70 岁人群约 60%,80 岁以上人群可高达 80%左右,我国约有 1.2 亿骨关节炎患者,且该病的致残率可高达 53%。特别是膝骨关节炎(Knee Osteoarthritis, KOA)患者数量最多,超过类风湿性关节炎、强直性脊柱炎等其它关节炎患者数的总和。我国膝 OA 总体患病率为 18% [11]~22.8% [12],45 岁以上人群最为常见,且随年龄增加,发病率逐步提高[13]。北京大学人民医院的林剑浩教授团队在我国开展了大规模膝 OA 的流行病学调查,结果显示在中国症状性 KOA 的患病率为 8.1% [14],这一数据高于西方,而且在中国农村地区的患病率高于城市地区[15],山区高于平原地区。

目前治疗膝骨关节炎(KOA)的手段很多,主要包括保守治疗(药物治疗、非药物治疗)和外科手术治疗。早期膝关节 OA 的治疗主要是保守治疗,包括改变日常活动、减肥、理疗、中医针灸、力量训练、运动疗法、生物力学干预、自我管理教育、口服辣椒碱或非甾体抗炎药、口服硫酸氨基葡萄糖、双醋瑞因等,效果不佳时也可采取膝关节腔注射疗法,如关节腔内注射皮质类固醇、玻璃酸钠、几丁糖和其他生物活性物质等。当上述治疗均无效时,最后选择手术治疗,如截骨矫形术、人工膝关节置换术等[16][17][18]。然而一项随机、双盲、对照研究显示,与非手术治疗相比,虽然全膝关节置换术能够更加明显地改善患者的症状并提高患者的生活质量,但手术本身可能会带来一系列严重的并发症,如关节脱位、感染、假体松动、假体下沉、假体周围骨折等[19]。而目前的保守治疗方法主要是缓解症状、改善功能,仍无法促进退变软骨的修复或阻断疾病发展的进程,同时还可能引发胃肠道、肝脏、肾脏和/或心脏等相关副作用。因此需要新的有效的治疗手段。

近年来,随着分子生物学、细胞生物学的进步,为骨关节炎提供了许多新的生物治疗手段[20],由传统的止痛对症治疗转变为修复再生治疗。生物疗法是一种利用生物制剂或细胞治疗来促进身体自然修复和再生的治疗方法。在膝关节治疗中,生物疗法通常包括以下几种:1) 血小板富集血浆(PRP)疗法:这种疗法是将患者自身的血液离心分离出富含血小板的血浆,然后注射到膝关节,以促进组织修复和再生。2) 干细胞治疗:这种疗法使用患者自身的干细胞,从骨髓或脂肪组织中提取,经过处理后再注射到膝关节中,以促进软骨修复和再生。3) 其它生物制剂治疗:这种疗法使用一些生物制剂,注射到膝关节中,以减轻疼痛和促进软骨修复。随着研究的不断进步和深入,膝关节主要的细胞类型如下:软骨细胞、免疫细胞、干细胞、成骨细胞、破骨细胞等。干细胞是一类未分化的细胞,具有两个主要特征:自我更新和多向分化潜能。自我更新指干细胞可以不断地自我复制,生成更多的干细胞;而多向分化潜能则指干细胞可以分化成多种不同类型的细胞,如神经细胞、心肌细胞、肌肉细胞等。这些细胞可以在身体中执行特定的功能,以维持正常生理功能和修复受损组织。膝骨关节炎的干细胞治疗主要通过以下两个方面发挥作用:

#### 1) 干细胞(MSCs)的分化修复特性

MSCs 拥有向软骨细胞分化的潜能,使其在 OA 的软骨修复中具有重要作用。MSCs 可以向受损的软骨组织发生迁移,进而分化成软骨细胞修复缺损的软骨。

#### 2) 干细胞(MSCs)的抗炎及免疫调节作用

KOA 通常被认为是退行性疾病,但越来越多的研究表明炎症是 KOA 的发生与进展中不容忽视的一个重要因素。MSCs 不仅能够结构上促进软骨损伤修复,还拥有高效的免疫调节及抗炎效果,已有研究证实 MSCs 具有免疫调节性质,并通过调节先天和适应性免疫系统实现其免疫调节作用。MSCs 还通过调节 T、B 淋巴细胞的功能状态来调节机体适应性免疫系统。因此,MSCs 可能通过多种途径调节机体免疫系统以减轻 KOA 滑膜炎及促进关节软骨修复。

由于血管的缺失, KOA 关节透明软骨退变通常不能再生, 退变软骨中干/祖细胞缺失和/或缺乏干/祖细胞迁移是软骨缺损无法愈合的原因[21], 因此, 为软骨病变提供干/祖细胞可以加速再生过程, 这是干细胞治疗的基础。相关研究表明, 干细胞可以为关节软骨的修复与再生提供新的治疗策略[22], 干细胞制剂关节腔内注射, 是目前治疗 KOA 的前沿与热点。研究发现, 人脐血干细胞来源于脐带血单个核细胞(Umbilical Cord Blood Mononuclear Cells, UCB-MNCs), 脐带血单个核细胞含有大量间充质干细胞[23]、造血干细胞、未成熟的干/祖细胞、内皮祖细胞等, 可作为干细胞移植的重要来源。而且脐带血单个核细胞(UCB-MNCs)来源丰富, 免疫原性低, 可以直接用于异体移植, 对供者没有伤害[24]。

大量研究证明, 单个核细胞在治疗骨关节炎时, 可以发挥不同细胞间的协同作用[25]。国内外通过关节腔内注射单个核细胞(MNCs)治疗人膝骨关节炎的临床安全性和有效性均得到了初步证实, 目前 KOA 治疗研究涉及的 MNCs, 有骨髓、外周血、脐带血、脂肪源性的 MNCs 等, 其中脐带血单个核细胞(UCB-MNCs)具有安全性高、来源丰富、易于采集、制备便捷、制备时间短、费用低、污染少、低免疫原性、移植耐受性好等独特优势, 应是 MNC 治疗 OA 临床研究的新方向。因此, 本文对 UCB-MNCs 在 KOA 治疗中的应用作一综述。

## 2. 人脐带血单个核细胞(UCB-MNCs)概述

### 2.1. UCB-MNCs 的作用及优点

脐带血单个核细胞(UCB-MNCs)是脐带血中具有单个细胞核的细胞总称, 包含多种异质性细胞群, 如造血干细胞、间充质干细胞、内皮祖细胞、淋巴细胞、单核细胞等。不同于单一细胞类型的细胞治疗, UCB-MNCs 治疗涉及多种功能的细胞类型, 包括抗炎、免疫调节、抗凋亡、神经血管再生和软骨再生等。然而, 不同细胞类型之间是如何协同作用起治疗作用的, 目前尚不清楚。近年来, UCB-MNCs 已成为目前临床干细胞治疗较常用的种子细胞之一。

人 UCB-MNCs 移植可用于治疗多种疾病, 如急性心肌梗死、卵巢早衰、血管性痴呆、迟发性脑病、新生儿缺血缺氧性脑病、多种妇科疾病、血液系统疾病、神经损伤、糖尿病足等。相关研究已证实, UCB-MNCs 移植对于改善关节软骨功能有良好疗效 具有临床应用价值。在治疗 KOA 时, UCB-MNCs 可以发挥不同细胞间的协同作用。目前临床研究和应用常见的单个核细胞的来源有外周血、骨髓和脐带血, 其中自体外周血和骨髓来源的单个核细胞一般需要局部麻醉, 然后再进行穿刺采集处理得到单个核细胞, 此过程中患者需要等待细胞采集时间和忍受巨大疼痛, 且自体单个核细胞移植又受到细胞体外净化等问题的困扰。异体骨髓移植或外周血单个核细胞移植受 HLA 匹配供者来源的限制。而脐带血单个核细胞(UCB-MNCs)因其来源方便、获取简单迅速、对供体无任何伤害、基本不涉及伦理问题、有抗炎和招募作用、较强的增殖分化能力、无成瘤风险、较低的免疫原性、具有免疫调节能力、对 HLA 配型要求低、移植物抗宿主病(GVHD)发生率低且程度轻等优势而日益受到重视, 因而 UCB-MNCs 是再生医学和细胞工程的理想组织细胞来源, 在临床再生工程及早期干预 KOA 的治疗中展现出广阔的应用前景, 国内外学者研究较多。但目前的临床随机对照试验数量有限, 尚需要进一步的临床研究证实其疗效。

### 2.2. CB-MNCs 的分离及组成

脐带血单个核细胞(Umbilical Cord Blood Mononuclear Cells, UCB-MNCs)来自正常健康分娩孕妇的脐带血通过离心获得, 取出其中干细胞浓缩物即为脐带血单个核细胞(UCB-MNCs), 其中含有的单个核细胞通常比生理状态下血液中的单个核细胞浓度高出许多倍。UCB-MNCs 的分离方法主要有: 6%羟乙基淀粉(HES)分离法、3%明胶分离法、Ficoll 分离法、氯化铁溶解红细胞法以及直接离心法等。一般认为, 6% HES 分离法封闭运行、污染机会少, 所需时间短, MNC 回收率高。目前常用 Ficoll 分离法、HES 分离法



[26]。

人体脐带血分离得到的 UCB-MNCs 富含多种细胞, 大概可以分为血细胞、免疫细胞、干/祖细胞。血细胞有尚未发育成熟的红、白细胞及单核细胞等; 免疫细胞主要是淋巴细胞、自然杀伤细胞、树突状细胞; 干/祖细胞的种类比较多, 比如造血干细胞、间充质干细胞、内皮祖细胞、淋巴母细胞、小胚胎干细胞、骨髓细胞等。Karlupia 等[27]研究显示, 人 UCB-MNCs 中还含有一定数量的神经干细胞和小胚胎干细胞, 以及内皮细胞。陈超等[28]利用流式细胞分析技术检测人 UCB-MNCs, 结果显示 UCB-MNCs 含有多种不同类型的细胞, 包括淋巴细胞, 单核细胞, 造血干细胞, 间充质干细胞和内皮祖细胞, 检测人 UCB-MNCs 的表面标志物, 来确定细胞组成。分离 UCB-MNCs 后, 立即将细胞分成两部分, 一部分冻存于液氮, 另一部分做流式检测, 检测了 3 份不同的脐血样品。CD16, CD29, CD34, CD45, CD73, 和 CD90 的值分别是 $(31.90 \pm 3.67)\%$ ,  $(71.50 \pm 0.56)\%$ ,  $(3.05 \pm 1.06)\%$ ,  $(91.65 \pm 9.69)\%$ ,  $(18.90 \pm 4.38)\%$ , 和 $(43.70 \pm 0.42)\%$ , 提示大部分细胞为表达 CD45, CD29 和 CD90 的淋巴细胞、单核细胞, 另外还有低表达 CD34 的造血干细胞。

### 2.3. UCB-MNCs 的形态特征

UCB-MNCs 是体积较大的细胞, 其细胞核常偏位, 呈多形性, 如卵圆形、肾形、马蹄形、不规则形等, 常有折叠感。染色质呈疏松网状, 着色较浅, 胞质较多, 嗜碱性, 但因含大量细小的嗜天青颗粒而染成灰蓝色, 颗粒含过氧化物酶。

### 2.4. UCB-MNCs 的免疫原性

到目前为止, 大量研究均已证实了脐带血单个核细胞(UCB-MNCs)可以向内、中、外三个胚层的组织细胞分化, 并且其免疫系统相对不成熟, T 淋巴细胞比较原始, 一般不会诱发免疫反应和移植物抗宿主反应[29]。

与骨髓和外周血相比, UCB-MNCs 的免疫细胞发育不成熟, 抗原表达和功能活性低下, 是移植后移植物抗宿主病(GVHD)发生率低的主要原因。UCB-MNCs 中的单核细胞、T 淋巴细胞、树突状细胞(Dendritic Cell, DC)和自然杀伤细胞(Nature Killer, NK)是发挥免疫活性和导致移植物抗宿主病的主要效应细胞[30]。

UCB-MNCs 会产生旁分泌效应, 其分泌的外泌体、生长因子和细胞免疫因子表现出免疫调节作用, 而不受主要组织相容性复合体(MHC)限制。因此, 它在退行性疾病和免疫疾病中的应用受到越来越多的关注。

## 3. UCB-MNCs 治疗 KOA 的作用机制

### 3.1. UCB-MNCs 修复关节软骨损伤的作用机制

脐带血单个核细胞(UCB-MNCs)被认为可以通过促进修复局部损伤软骨以及诱导干细胞向软骨生成方向发展, 并诱导软骨愈合的自分泌生长因子来刺激细胞增殖。通过关节腔注射 UCB-MNCs 后, 有部分细胞贴附于软骨缺损部位, 这种贴附作用是在  $\beta$ -1 整合素的作用下实现的[31]。同时多数研究显示, UCB-MNCs 具有旁分泌功能, 其可以分泌 EGF、TGF- $\beta$ 、EVEGF 等生长因子, 从而促进软骨的再生。另外, 还会释放细胞因子、生物活性脂质体以及微囊泡还具有抗炎、促血管形成以及抗细胞凋亡作用。由此可见, UCB-MNCs 通过多种机制在软骨修复和缓解疼痛方面发挥了作用。这些都被认为具有调节组织愈合和再生能力, 其中的生长因子和炎症调节因子可以刺激软骨细胞和多能干细胞增殖, 促进软骨分化再生, 防止软骨细胞和多能干细胞凋亡, 减少炎症细胞因子如 IL-1 $\beta$ 、基质金属蛋白酶的作用以减小软骨

损伤、抑制炎症反应，从而保护软骨、减轻 KOA 患者的疼痛症状。

### 3.2. UCB-MNCs 抗炎及免疫调节的作用机制

尽管 KOA 通常被认为是退行性疾病，但越来越多的研究表明炎症是 KOA 的发生与进展中不容忽视的一个重要因素[32]。疼痛是 KOA 的早期警示信号，也是 KOA 的主要症状。关节软骨处于一种特殊的生物力学环境中，在 KOA 的致病因素作用下该力学平衡被打破，这种超过生理水平的压力会直接导致多种炎性细胞因子的高表达，进而损害关节软骨的支撑作用和保护机制，加速软骨的退变和 KOA 的进程。KOA 患者中，滑膜组织中表现出与炎性细胞因子表达相关的免疫细胞浸润增加，并且具有高表达的炎性细胞因子，其中包括肿瘤坏死因子(Tumour Necrosis Factor, TNF)、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8、IL-22、整合素样金属蛋白酶(ADAMTS)家族、基质金属蛋白酶(MMP)等[33]，引起关节痛觉感受器阈值降低及敏感性增高，导致膝关节疼痛的产生与发展。此外，先天性免疫系统的激活会导致 KOA 滑膜炎的持续存在，这主要是由于受损的软骨细胞和基质所产生的分解代谢产物，其通过 Toll 样受体(TLR)途径激活先天免疫系统所引起的损伤相关分子模式[34]。

脐带血单个核细胞(UCB-MNCs)不仅能够在结构上促进关节软骨损伤的修复，还拥有高效的免疫调节及抗炎效果。已有研究证实 CB-MNCs 具有免疫调节性质，并通过调节先天和适应性免疫系统实现其免疫调节作用。CB-MNCs 中的 T 淋巴细胞参与机体特异性免疫应答。CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞发挥抗感染作用，CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞参与细胞毒性反应。体外研究表明 CB-MNCs 能抑制 T 细胞增殖活化、凋亡，抑制 B 细胞，抑制细胞毒性 T 细胞的细胞毒性作用，并改变细胞因子 TH1/TH2 平衡[35]。此外，国外研究表明，作为免疫应答的重要介质，细胞因子影响炎症的每一个过程响应级联。CD4 值和 CD4/CD8 比值增加升高炎性细胞因子 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平，这表明 UCB-MNCs 可以改变 T 细胞亚群的失衡，调节细胞免疫反应，抑制 OA 患者的炎症反应。总之，UCB-MNCs 可能通过抑制 T 淋巴细胞、下调炎性因子发挥抗炎和主动免疫调节作用。此外，其免疫细胞和旁分泌细胞因子可以改变微环境，抑制炎症反应。因此，UCB-MNCs 可能通过多种途径调节机体免疫系统以减轻 KOA 滑膜炎反应及促进软骨修复。因此，进行积极的抗炎、抗免疫反应治疗将在 KOA 软骨修复治疗中发挥重要作用。

### 4. UCB-MNCs 治疗 KOA 的相关研究

从生物学的角度来看，KOA 软骨缺损的治疗在临床上极具挑战性，因为软骨细胞天然再生潜力有限，尤其是随着年龄的增长。因此，针对软骨进行再生医学研究成为 KOA 治疗的新趋势。目前有许多用于软骨修复的治疗方法，如微骨折、自体骨软骨移植、自体软骨细胞植入(Autologous Chondrocyte Implantation, ACI)等，然而，这些技术在治疗上都有着各种局限性，如缺乏再生透明软骨的潜力，与自身软骨组织的整合不规则，软骨细胞来源有限，且可能引起正常软骨病变等，都不能令患者达到满意的效果。目前尚缺少一种能在病理水平逆转或缓解病程的治疗方法。理想的骨关节炎关节修复治疗应需恢复软骨细胞再生能力及抗炎症破坏作用。

近年来，随着生物医学的发展，为骨关节炎的治疗提供了许多新的手段，相关研究表明，脐带血单个核细胞是一类具有自我更新、高度增殖和多向分化潜能的细胞群，在一定的环境下能分化成为多种功能细胞。它富含多种活性生长因子，能够刺激软骨细胞增殖，促进软骨前体细胞增殖、迁移、向软骨细胞分化，促进胶原蛋白合成以及抑制软骨的炎性反应和退变，提供有利于软骨修复的内环境，延缓 KOA 病情进展。但我国人体细胞产品均纳入药品管理，目前尚无任何新药上市，且除了新药报批周期长、开展应用的医院级别受限制外，还存在费用高昂等问题，限制了其临床广泛应用。

人脐带血单个核细胞来源于新生儿脐血，其来源广泛、提纯效果好且不受伦理道德等限制，由于其

免疫原性低, 移植排斥发生率低, 国内外学者研究较多[36]。脐带血单个核细胞(UCB-MNCs)作为一种多能干细胞, 具有横向分化能力, 在一定条件下可分化为关节软骨细胞等, 因此, 在一些临床前研究中, 证实关节腔内注射 UCB-MNCs 对各种关节病具有一定的治疗作用, 该结论已经得到大量的动物体内实验验证, 包括小鼠[37]、兔[38]、大鼠[39]、猪[40]、山羊[41]、狗[42]、马[43]、以及迷你猪[44]。脐带血单个核细胞(UCB-MNCs)具有安全性高、来源丰富、易于采集、制备便捷、制备时间短、费用低、污染少、低免疫原性、移植耐受性好等独特优势。且手术室中可直接处理细胞, 无需培养, 一般医疗机构均可开展。

KOA 关节软骨缺损区常呈较大范围、无界限、多位置分布, 股骨、胫骨上下面对应。直接向人膝关节腔内注射 MNCs 治疗 KOA, 是一种相对侵袭性较小的微创方法。与动物 OA 模型相比, 人膝 OA 进展缓慢, 可能需要 15~30 年[45]。因此, 动物 OA 模型上的病理改变并不一定与人膝 OA 缓慢进展的损伤相一致[46]。即便如此, 仍有多项临床研究报道。然而, 也有一些有争议的报道。Noth 等[47]研究发现, 直接向人膝关节腔内注射 UCB-MNCs 可能仅对早期 KOA 有效, 因为早期 KOA 缺损仅限于软骨层, 晚期 KOA 常涉及关节软骨大面积缺损、骨赘形成及软骨下骨硬化等改变, 未来进一步研究将着重于直接向膝关节腔内注射 UCB-MNCs 是否适合修复大面积侵蚀的软骨缺损, 如晚期 KOA 软骨缺损。

临床研究发现, 膝关节腔内注射 MNCs 治疗 KOA, 通过抑制促炎分子和分解代谢分子表达、促进抗炎和合成代谢分子分泌等机制[48] [49], 具有较好的消炎、止痛、修复软骨损伤、促进软骨再生、阻止或延缓病程进展, 从而发挥减轻疼痛和改善关节功能的作用。膝关节腔内注射 MNCs 治疗 KOA 的并发症, 仅见膝关节的肿胀、疼痛和反应性积液, 反应性积液出现率为 0.28%, 均较轻微[50]。虽然目前已报道的研究显示出了满意的治疗效果, 但多数研究存在样本量以及实验设计方面的不足, 同时尚缺乏大量高质量的临床研究。

## 5. 膝关节腔注射 UCB-MNCs 与透明质酸钠(玻璃酸钠)治疗 KOA 的效果对比

透明质酸(HA)是人体组织、细胞间质内的一种固有成分, 对组织器官和细胞起到润滑与滋养的作用。关节腔内注射 HA 是目前临床治疗 KOA 的常用方法, 具有缓解疼痛、改善症状的功能。有研究比较 UCB-MNCs 与 HA 关节内注射治疗 KOA 的效果与安全性。Goncars 等的前瞻性随机对照临床试验研究关节腔内注射 UCB-MNCs 与 HA 治疗 KOA 的效果与安全性, 治疗组患者 28 例(K-L 分级 II 级 9 例, III 级 19 例), 对照组 28 例(K-L 分级 II 级 7 例, III 级 21 例), 治疗组一次性 BMNc 关节内注射, 对照组 HA 关节内注射 1 周 1 次, 共 3 次, 分别于注射前及注射后 3、6、12 个月进行 KOOS 和 KSS 评分。该研究结果显示, 注射 UCB-MNCs 后第 1 周疼痛减轻, 疼痛减轻和其他 KOA 症状改善持续超过 12 个月, 而 HA 注射也有减轻疼痛和改善 KOA 症状的效果, 但效果比 UCB-MNCs 差, 特别是随着时间延长, 临床疗效差异增大; K-L 分级 II 级和 III 级组间临床改善无统计学差异; 注射 BMNc 和 HA 后均未见不良反应。

## 6. UCB-MNCs 应用中遇到的问题

脐带血单个核细胞(UCB-MNCs)治疗 KOA 等疾病的前景广阔, 但其应用中仍存在许多问题, 例如:

- ① 目前在不同研究中使用的方法和脐血 MNCs 的制备方法以及脐带血 MNCs 制剂分类并没有得到统一;
- ② 诱导 UCB-MNCs 定向软骨分化的信号通路及相关机制不够了解, 如何提高其定向软骨分化能力是目前研究的热点与难点;
- ③ 关节软骨损伤程度与 UCB-MNCs 治疗的相关性没有明确的标准;
- ④ 对于脐带血 MNCs 注射的浓度、次数、频率以及治疗不同阶段的膝骨关节炎缺乏一定的标准;
- ⑤ 临床疗效持续性及其副作用尚需大量样本进行长期随访及统计学分析;
- ⑥ 动物试验模型并不能完全模拟 KOA 的微环境, 更优化的模型有待进一步完善;
- ⑦ 同种异体 UCB-MNCs 在关节内的存活时间和存活数量, 如何与宿主关节组织整合, 需要采用一种有效、非侵入性和无毒技术进行细胞跟踪研究;
- ⑧ 最佳的移植细胞数、治



疗时间窗, 移植细胞和体内存活细胞的比例是多少; ⑨ UCB-MNCs 被诱导成软骨后再植入体内是否有更好的效果; ⑩ 对于使用脐带血 MNCs 治疗后的治疗效果评价无统一规定, 所以关乎其疗效争议较多, 暂时无统一的建议和指南。尽管如此, UCB-MNCs 治疗骨关节炎的前景是光明的, 以 UCB-MNCs 为基础的细胞疗法将来可能成为临床治疗 KOA 的常规手段。

## 7. 总结与展望

近年来, 随着生物医学细胞疗法在各种疾病模型研究中的逐渐深入, 关于 KOA 治疗的相关研究也逐渐开展。目前的临床研究证据中支持脐带血单个核细胞(UCB-MNCs)治疗膝骨关节炎有一定疗效者占大多数, UCB-MNCs 能暂时缓解膝关节疼痛和改善关节功能, 与其他几种常用的 KOA 治疗方法相比效果更佳。人同种异体 UCB-MNCs 具有来源广泛、获取简单、基本不涉及伦理问题、对供体无任何伤害、有抗炎和招募作用、较强的增殖分化能力、无成瘤风险、具有免疫调节能力、较低的免疫原性、对 HLA 配型要求低、移植物抗宿主病(GVHD)发生率低且程度轻等优势, 因此被众多研究者认为在治疗 KOA 方面有良好的应用前景。基于目前国内外相关研究文献分析, 采用人同种异体的 UCB-MNCs 治疗 KOA 从理论上应会获得较为满意的疗效, 然而有很多问题仍需进一步研究。因此, 在以后的研究中应着力解决这些不足之处, 为广泛应用 UCB-MNCs 治疗 KOA 提供必要的实验数据和临床依据。作者认为, 制定 UCB-MNCs 制剂的质量控制标准、临床应用标准和进行多中心大样本随机对照临床试验势在必行。另外, 探索 UCB-MNCs 治疗 KOA 的分子机制, 应当是目前研究的新切入点和新方向, 以期未来给膝骨关节炎患者提供一种经济、安全、有效、可靠的临床治疗新方法。

## 参考文献

- [1] Zhang, L., Hu, H., Tian, F., *et al.* (2011) Enhancement of Subchondral Bone Quality by Alendronate Administration for the Reduction of Cartilage Degeneration in the Early Phase of Experimental Osteoarthritis. *Clinical and Experimental Medicine*, **11**, 235-243. <https://doi.org/10.1007/s10238-011-0131-z>
- [2] Loeser, R.F. (2013) Aging Processes and the Development of Osteoarthritis. *Current Opinion in Rheumatology*, **25**, 108-113. <https://doi.org/10.1097/BOR.0b013e32835a9428>
- [3] Zhang, Y.Q., Xu, L., Nevitt, M.C., *et al.* (2001) Comparison of the Prevalence of Knee Osteoarthritis between the Elderly Chinese Population in Beijing and Whites in the United States—The Beijing Osteoarthritis Study. *Arthritis & Rheumatology*, **44**, 2065-2071. [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(200109\)44:9<2065::AID-ART356>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1529-0131(200109)44:9<2065::AID-ART356>3.0.CO;2-Z)
- [4] Coggon, D., Reading, I., Croft, P., *et al.* (2001) Knee Osteoarthritis and Obesity. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, **25**, 622-627. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801585>
- [5] Felson, D.T., Lawrence, R.C., Dieppe, P.A., *et al.* (2000) Osteoarthritis: New Insights. Part 1: The Disease and Its Risk Factors. *Annals of Internal Medicine*, **133**, 635-646. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-133-8-200010170-00016>
- [6] Lee, A.S., Ellman, M.B., Yan, D., *et al.* (2013) A Current Review of Molecular Mechanisms Regarding Osteoarthritis and Pain. *Gene*, **527**, 440-447. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.05.069>
- [7] Armiento, A.R., Stoddart, M.J., Alini, M., *et al.* (2018) Biomaterials for Articular Cartilage Tissue Engineering: Learning from Biology. *Acta Biomaterialia*, **65**, 1-20. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.11.021>
- [8] Fellows, C.R., Matta, C., Zakany, R., *et al.* (2016) Adipose, Bone Marrow and Synovial Joint-Derived Mesenchymal Stem Cells for Cartilage Repair. *Frontiers in Genetics*, **7**, Article 213. <https://doi.org/10.3389/fgene.2016.00213>
- [9] Chen, S., Fu, P., Wu, H., *et al.* (2017) Meniscus, Articular Cartilage and Nucleus Pulposus: A Comparative Review of Cartilage-Like Tissues in Anatomy, Development and Function. *Cell and Tissue Research*, **370**, 53-70. <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2613-0>
- [10] Van den Bosch, M.H., Blom, A.B., Van Lent, P.L., *et al.* (2014) Canonical Wnt Signaling Skews TGF- $\beta$  Signaling in Chondrocytes towards Signaling via ALK1 and Smad 1/5/8. *Cellular Signalling*, **26**, 951-958. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2014.01.021>
- [11] 王斌, 邢丹, 董圣杰, 等. 中国膝骨关节炎流行病学和疾病负担的系统评价[J]. 中国循证医学杂志, 2018, 18(2): 134-142.
- [12] 张欢, 陈晨. 上海市静安区中老年人膝骨关节炎流行病学调查[J]. 现代医学, 2018, 46(6): 642-646.



- [13] 张建新, 王和鸣, 吴超英, 等. 泉州市中老年人退行性膝骨关节炎的流行病学调查[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2007, 15(2): 4-5.
- [14] Tang, X., Wang, S., Zhan, S., *et al.* (2016) The Prevalence of Symptomatic Knee Osteoarthritis in China: Results from the China Health and Retirement Longitudinal Study. *Arthritis & Rheumatology*, **68**, 648-653. <https://doi.org/10.1002/art.39465>
- [15] Kang, X., Fransen, M., Zhang, Y., *et al.* (2009) The High Prevalence of Knee Osteoarthritis in a Rural Chinese Population: The Wuchuan Osteoarthritis Study. *Arthritis & Rheumatology*, **61**, 641-647. <https://doi.org/10.1002/art.24464>
- [16] 雷光华, 王坤正. 骨关节炎诊疗指南(2018年版)解读[J]. 中华骨科杂志, 2018, 38(12): 716-717.
- [17] Jevsevar, D.S. (2013) Treatment of Osteoarthritis of the Knee: Evidence-Based Guideline, 2nd Edition. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons*, **21**, 571-576. <https://doi.org/10.5435/00124635-201309020-00008>
- [18] Bedard, N.A., DeMik, D.E., Glass, N.A., *et al.* (2018) Impact of Clinical Practice Guidelines on Use of Intra-Articular Hyaluronic Acid and Corticosteroid Injections for Knee Osteoarthritis. *The Journal of Bone and Joint Surgery*, **100**, 827-834. <https://doi.org/10.2106/JBJS.17.01045>
- [19] Skou, S.T., Roos, E.M. and Laursen, M.B. (2016) A Randomized, Controlled Trial of Total Knee Replacement. *The New England Journal of Medicine*, **374**, 692-670. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1514794>
- [20] Chen, Q., Shao, X., Ling, P., *et al.* (2017) Recent Advances in Polysaccharides for Osteoarthritis Therapy. *European Journal of Medicinal Chemistry*, **139**, 926-935. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.08.048>
- [21] 王权. ALK5 信号通路在关节软骨稳态维持和骨关节炎中的作用及机制研究[D]: [博士学位论文]. 重庆: 中国人民解放军陆军军医大学, 2017.
- [22] Cucchiaroni, M., Madry, H., Guilak, F., *et al.* (2014) A Vision on the Future of Articular Cartilage Repair. *European Cells & Materials*, **27**, 12-16. <https://doi.org/10.22203/eCM.v027sa03>
- [23] 满勇, 李建斌, 马冀, 等. 人脐血间质干细胞静脉输注治疗酒精性股骨头坏死[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(24): 4734-4737.
- [24] Yang, W.Z., Zhang, Y., Wu, F., *et al.* (2010) Safety Evaluation of Allogeneic Umbilical Cord Blood Mononuclear Cell Therapy for Degenerative Conditions. *Journal of Translational Medicine*, **8**, Article No. 75. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-8-75>
- [25] 张文博, 赵东宝. 关节腔内注射细胞制剂治疗骨关节炎的临床研究进展[J]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2022, 12(1): 39-44.
- [26] 兰炯采, 刘忠, 甘茂州, 等. 脐血单个核细胞的分离及冻存[J]. 国实验血液学杂志, 2002, 10(4): 351-354.
- [27] Karlupia, N., Manley, N.C., Prasad, K., *et al.* (2014) Intraarterial Transplantation of Human Umbilical Cord Blood Mono Nuclear Cells Is More Efficacious and Safer Compared with Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cells in a Rodent Stroke Model. *Stem Cell Research & Therapy*, **5**, Article No. 45. <https://doi.org/10.1186/scrt434>
- [28] 陈超, 段婧, 申爱芳, 等. 脐带血单个核细胞对大鼠帕金森病的治疗效果观察[J]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2017, 7(2): 71-76.
- [29] O'Brien, T.A., Tiedemann, K. and Vowels, M.R. (2006) No Longer a Biological Waste Product: Umbilical Cord Blood. *Medical Journal of Australia*, **184**, 407-410. <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.2006.tb00292.x>
- [30] 江淑芳, 史春梦. 脐带血免疫学特性的研究进展[J]. 免疫学杂志, 2002, 18(z1): 149-152.
- [31] Djouad, F., Bouffi, C., Ghannam, S., *et al.* (2009) Mesenchymal Stem Cells: Innovative Therapeutic Tools for Rheumatic Diseases. *Nature Reviews Rheumatology*, **5**, 392-399. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2009.104>
- [32] Liu-Bryan, R. and Terkeltaub, R. (2015) Emerging Regulators of the Inflammatory Process in Osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, **11**, 35-44. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2014.162>
- [33] Pers, Y.M., Ruiz, M., Noel, D., *et al.* (2015) Mesenchymal Stem Cells for the Management of Inflammation in Osteoarthritis: State of the Art and Perspectives. *Osteoarthritis and Cartilage*, **23**, 2027-2035. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2015.07.004>
- [34] Coulson-Thomas, V.J., Coulson-Thomas, Y.M., Gesteira, T.F., *et al.* (2016) Extrinsic and Intrinsic Mechanisms by Which Mesenchymal Stem Cells Suppress the Immune System. *The Ocular Surface*, **14**, 121-134. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2015.11.004>
- [35] Phinney, D.G. and Pittenger, M.F. (2017) Concise Review: MSC-Derived Exosomes for Cell-Free Therapy. *Stem Cells*, **35**, 851-858. <https://doi.org/10.1002/stem.2575>
- [36] Lee, M.W., Jang, I.K., Yoo, K.H., *et al.* (2010) Stem and Progenitor Cells in Human Umbilical Cord Blood. *International Journal of Hematology*, **92**, 45-51. <https://doi.org/10.1007/s12185-010-0619-4>
- [37] Diekman, B.O., Wu, C.L., Louer, C.R., *et al.* (2013) Intra-Articular Delivery of Purified Mesenchymal Stem Cells

- from C57BL/6 or MRL/MpJ Superhealer Mice Prevents Posttraumatic Arthritis. *Cell Transplantation*, **22**, 1395-1408. <https://doi.org/10.3727/096368912X653264>
- [38] Ter, H.M., Schelbergen, R., Blattes, R., *et al.* (2012) Antiinflammatory and Chondroprotective Effects of Intraarticular Injection of Adipose-Derived Stem Cells in Experimental Osteoarthritis. *Arthritis & Rheumatology*, **64**, 3604-3613. <https://doi.org/10.1002/art.34626>
- [39] Horie, M., Choi, H., Lee, R.H., *et al.* (2012) Intra-Articular Injection of Human Mesenchymal Stem Cells (MSCs) Promote Rat Meniscal Regeneration by Being Activated to Express Indian Hedgehog That Enhances Expression of Type II Collagen. *Osteoarthritis and Cartilage*, **20**, 1197-1207. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2012.06.002>
- [40] Sato, M., Uchida, K., Nakajima, H., *et al.* (2012) Direct Transplantation of Mesenchymal Stem Cells into the Knee Joints of Hartley Strain Guinea Pigs with Spontaneous Osteoarthritis. *Arthritis Research & Therapy*, **14**, Article No. R31. <https://doi.org/10.1186/ar3735>
- [41] Al, F.H., Nor, H.B.M., Chen, H.C., *et al.* (2012) The Potential of Intra-Articular Injection of Chondrogenic-Induced Bone Marrow Stem Cells to Retard the Progression of Osteoarthritis in a Sheep Model. *Experimental Gerontology*, **47**, 458-464. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2012.03.018>
- [42] Guercio, A., Di, M.P., Casella, S., *et al.* (2012) Production of Canine Mesenchymal Stem Cells from Adipose Tissue and Their Application in Dogs with Chronic Osteoarthritis of the Humeroradial Joints. *Cell Biology International*, **36**, 189-194. <https://doi.org/10.1042/CBI20110304>
- [43] Frisbie, D.D., Kisiday, J.D., Kawcak, C.E., *et al.* (2009) Evaluation of Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction or Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Osteoarthritis. *Journal of Orthopaedic Research*, **27**, 1675-1680. <https://doi.org/10.1002/jor.20933>
- [44] Ha, C.W., Park, Y.B., Chung, J.Y., *et al.* (2015) Cartilage Repair Using Composites of Human Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells and Hyaluronic Acid Hydrogel in a Minipig Model. *Stem Cells Translational Medicine*, **4**, 1044-1051. <https://doi.org/10.5966/sctm.2014-0264>
- [45] Huang, K., Zhang, C., Zhang, X.W., *et al.* (2011) Effect of Dehydroepiandrosterone on Aggrecanase Expression in Articular Cartilage in a Rabbit Model of Osteoarthritis. *Molecular Biology Reports*, **38**, 3569-3572. <https://doi.org/10.1007/s11033-010-0467-6>
- [46] Roberts, S., Genever, P., McCaskie, A., *et al.* (2011) Prospects of Stem Cell Therapy in Osteoarthritis. *Regenerative Medicine*, **6**, 351-366. <https://doi.org/10.2217/rme.11.21>
- [47] Noth, U., Steinert, A.F. and Tuan, R.S. (2008) Technology Insight: Adult Mesenchymal Stem Cells for Osteoarthritis Therapy. *Nature Clinical Practice Rheumatology*, **4**, 371- 380. <https://doi.org/10.1038/ncprheum0816>
- [48] Nees, T.A., Rosshirt, N., Reiner, T., *et al.* (2019) Inflammation and Osteoarthritis-Related Pain. *Der Schmerz*, **33**, 4-12. <https://doi.org/10.1007/s00482-018-0346-y>
- [49] Lapuente, J.P., Dos-Anjos, S. and Biazquez-Martinez, A. (2020) Intra-Articular Infiltration of Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction Cells Slows the Clinical Progression of Moderate-Severe Knee Osteoarthritis: Hypothesis on the Regulatory Role of Intra-Articular Adipose Tissue. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, **15**, Article No. 137. <https://doi.org/10.1186/s13018-020-01664-z>
- [50] Shanmugasundaram, S., Vaish, A., Chavada, V., *et al.* (2021) Assessment of Safety and Efficacy of Intra-Articular Injection of Stromal Vascular Fraction for the Treatment of Knee Osteoarthritis—A Systematic Review. *International Orthopaedics*, **45**, 615-625. <https://doi.org/10.1007/s00264-020-04926-x>