

# 凋亡在关节软骨细胞移植治疗中的研究进展

马子君

(石家庄市栾城人民医院 河北石家庄栾城区 051430)

摘要: 在治疗关节软骨缺损的研究过程中, 细胞移植治疗是一种很好的治疗方式。活细胞移植到缺损区域, 通过细胞分裂增殖形成软骨组织, 填补缺损。但是在整个移植过程中, 移植细胞死亡直接导致治疗失败。近年来, 随着研究的不断深入, 我们发现细胞凋亡的发生发展严重制约着移植的成功与否。本文就此问题作一概述。

关键词: 软骨细胞; 凋亡; 移植; 综述文献

关节软骨属于透明软骨, 分布在活动性关节表面, 无血管、神经结构, 关节软骨能有效地降低运动时力量负荷与摩擦系数, 这是其最重要的功能之一。关节软骨主要由软骨细胞与细胞外基质构成。软骨细胞是构成关节软骨的唯一细胞成分。胞外基质主要由Ⅱ型胶原、蛋白多糖、非胶原基质蛋白和水构成。软骨细胞在软骨的新陈代谢中起主导作用, 具有合成和降解胶原及蛋白多糖的功能, 其生存所需要的全部营养都是通过滑液的弥散方式获得。因此软骨组织一旦受损, 其组织修复能力及其困难, 导致骨关节炎的发生发展, 所以软骨细胞可以看做是临床软骨疾病中的靶细胞。急慢性损伤与炎症疾病均可引起关节软骨损伤破坏。关节软骨损伤后修复能力十分有限, 软骨细胞几乎没有迁移能力, 不能分裂增殖修复缺损, 因此细胞移植治疗软骨缺损成为近些年研究热点。移植治疗不仅可以填补缺损区域, 而且可以刺激损伤处软骨组织再生。虽然移植治疗体现出众多优势, 但严重制约着移植疗效成功与否的因素就是: 移植的软骨细胞凋亡, 不能行使其生物学功能。本文拟从关节软骨细胞凋亡发生的分子机制、凋亡引起的病理变化、凋亡对关节软骨细胞移植治疗的影响及凋亡抑制剂在关节软骨细胞移植治疗中的应用这四方面作一总结。

## 1. 关节软骨细胞凋亡的分子机制

细胞死亡通过两种途径: 坏死与凋亡。众所周知, 细胞坏死途径是一种非基因调控, 非 ATP 依赖的细胞灾难性死亡。与其恰恰相反的是, 细胞凋亡是由代谢或者特殊的信号通路激活, 依赖 ATP 的高度程序调控细胞死亡过程。各种细胞凋亡过程都是由复杂的细胞信号调控网络调控各种凋亡因子引起软骨细胞凋亡过程还不是很清楚。但是也有一些研究证实的信号通路, 比如整合素介导的生存信号通路。整合素是一种位于细胞膜上的的

蛋白分子, 它能够促使细胞与细胞之间或细胞与细胞外基质成分之间结合。软骨细胞表面的整合素蛋白结合细胞外基质里的二型胶原蛋白。有体外实验发现: 失去整合素介导的生存信号通路后, 软骨细胞诱导发生凋亡。其他的细胞因子, 炎症介质, 氧自由基, 周边组织, 浸润的炎性细胞等都属于凋亡诱发因素。比如肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 可以结合细胞膜表面的死亡受体途径, 在软骨细胞中也不例外; 气体信号分子 NO; 最近新发现剪切力跟液体静态压力也属于能激活 NO 通路的物理因子。虽然各种各样的刺激因子能诱发软骨细胞凋亡, 但是软骨细胞凋亡过程还是 caspase 级联反应过程。通过上游通路的激活, caspase 酶可以降解一系列细胞蛋白。Caspase 家族在软骨细胞凋亡过程中, caspase-1 与 caspase-3 被认为是两个重要的蛋白酶, caspase-1 在软骨细胞凋亡的初始阶段发挥作用, 而 caspase-3 则是在凋亡的执行阶段发挥作用。Caspase-9 则是部分组成凋亡复合体在调控凋亡发生的过程中起调控作用。

## 2. 凋亡引起软骨组织病理变化

在正常关节软骨组织中凋亡现象是一种很少发生的事件。只有关节软骨出现急慢性损伤时, 凋亡现象才会出现明显变化。急性损伤往往不单只是软骨组织损伤, 受累的滑膜、滑囊、韧带均参与损伤修复过程。这一时期受累的软骨细胞出现炎症病理变化居多。慢性损伤分为无症状期和有症状期。总的来说, 急性期与慢性无症状期软骨细胞的细胞与分子水平代谢变化是很不明确的, 但是缺损部位的软骨组织会影响关节的正常功能。近些年越来越多的研究发现关节软骨组织退变、降解与软骨细胞凋亡现象的发生发展有着密不可分的关系。Blanco 和 Hashimoto 等人首次提出软骨细胞凋亡水平与骨关节炎的发生具有明显相关。但是软骨细胞凋亡水平

所占的百分比与发生骨关节炎形成一直是一个不明确的争论,大量的研究报道软骨细胞凋亡形成软骨组织降解退变的平均指数为1%到6%,这些研究所采用的方法多是国际公认的tunel实验,之所以造成这些数据的波动范围比较宽,多是由于样本收集时间的不同。在关节内骨折的研究中,由于手术时间窗从0天到14天,所以凋亡指数更加具有时间相关性。总的来说软骨细胞凋亡现象增强势必造成软骨组织退变、降解。

### 3. 凋亡对细胞移植治疗的影响

细胞移植治疗首先需要获取软骨细胞种子,很多研究报道了在机械性切取软骨组织时,这种方式可以引起从切缘深入到0.4mm范围内的软骨细胞创伤性坏死与凋亡发生,使用自动器械能造成更多的细胞损伤,有研究报道使用自动器械造成的损伤是手工操作造成的损伤3倍之多,由此可见,在取材这一环节还是需要注意的。移植过程需要多步手术操作,在操作的过程不可避免的引起医源性损伤。首先需要解决的就是操作过程中带来的细胞凋亡。操作中,多次挤压移植体会造成移植体内的软骨细胞凋亡增强。Borazjani等人报道在模拟移植手术完成48小时后,手术组表层0.5mm内的软骨细胞有47%+11%死亡,对照组为7%+4%;通过tunnel实验发现:实验组阳性细胞率达26%+7%,对照组为9%+2%,更为重要的是这些凋亡通路被激活的软骨细胞还能释放更多的凋亡刺激因子,造成更多移植细胞凋亡。移植过程还需要注意:在接受移植物的靶部位,我们采用钻孔术创建作用点上存在的凋亡现象。在创建受体作用点的时候,必然会造成孔壁及孔底软骨组织损伤,这些损伤部位的软骨组织会引起周边辐射状软骨细胞凋亡。这些凋亡现象阻碍移植体与受体之间有效地融合,是一个很值得思考的问题。

### 4. 凋亡抑制剂在关节软骨细胞移植治疗中的应用

阻断凋亡通路上的相关蛋白因子发挥作用是抑制软骨细胞发生凋亡的重要靶点。一系列相关报道证实无论是在体外水平还是在体内水平平均降低了软骨细胞凋亡的发生率。Nuttall等人证实了在体外培养的人软骨细胞通过

使用caspase-3抑制剂能够阻止细胞凋亡并且维持细胞生物合成功能。也有其他的研究发现凋亡抑制剂还能减少细胞外基质的降解。在抑制软骨细胞凋亡上,生长因子也表现出抑制细胞凋亡的功能。生长因子的应用总的来说要比化学药剂带来的不良影响少,例如胰岛素样生长因子-1(IGF-1),IGF-1在很多方面能促进细胞代谢,在细胞的分裂,增殖,诱导上体现出很强的作用。有研究发现随着年龄增长,生长因子这种抗凋亡作用不断减退,这也许是慢性骨关节炎患者随着年龄增长,发病率增高的原因之一。NO途径也是一个很具有靶向意义的通路,阻断NO细胞内合成能减少细胞凋亡的发生发展。总而言之,这些抑制软骨细胞凋亡抑制剂在细胞移植治疗软骨细胞缺损的实验中都降低了细胞凋亡率,增强了治疗效果。

通过近十年来在关节软骨细胞上的研究进展,可以得出以下结论:

软骨细胞凋亡与软骨组织受损形成缺陷密切相关。

软骨细胞移植过程中凋亡制约着疗效的成功与否。

通过抑制软骨细胞关键的凋亡通路可以提高软骨细胞存活率。

因此,对于关节外科的发展来说,阻断凋亡通路、提高细胞移植治疗关节缺损还是很有期望的,值得我们为之继续探索。

参考文献:

[1] Redler LH, Caldwell JM, Schulz BM, et al. Management of articular cartilage defects of the knee[J]. Phys Sportsmed. 2012, 40(1): 20-35.

[2] Aizawa T, Kon T, Einhorn TA, et al. Induction of apoptosis in chondrocytes by tumor necrosis factor- $\alpha$ [J]. J Orthop Res. 2001, 19(5): 785-796.

[3] Tew SR, Kwan AP, Hann A, et al. The reactions of articular cartilage to experimental wounding: role of apoptosis[J]. Arthritis Rheum. 2000, 43(1): 215-225.

[基金资助] 石家庄市科技项目(211200653);

作者简介: 马子君,男,主治医师,河北井陘人,