

文章编号:1004-7220(2009)03-0159-03

· 述评 ·

## 膝关节前交叉韧带修复的组织工程研究进展

吕永钢, 薛茹月, 罗自维, 杨力

(重庆大学生物工程学院 国家“111计划”基地 & “生物流变科学与技术”教育部重点实验室, 重庆 400044)

**摘要:** 本文介绍前交叉韧带组织工程(即利用组织工程的方法重建具有生物性能的韧带,恢复损伤韧带的生理功能)的研究现状,展望其发展前景,并分析该领域有待解决的关键问题,重点论述前交叉韧带组织工程中种子细胞、生物支架、材料表面修饰、生长因子等的选择和应用。

**关键词:** 前交叉韧带; 组织工程; 研究进展; 生物材料

**中图分类号:** R318.01 **文献标志码:** A

### Research progress on tissue engineering and regeneration for anterior cruciate ligament

LÜ Yong-gang, XUE Ru-yue, LUO Zi-wei, YANG Li. ('111' Project Laboratory of Biomechanics and Tissue Repair & Key Laboratory of Biorheological Science and Technology, Ministry of Zducation, Bioengineering College, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

**Abstract:** The applications and advancement of research on anterior cruciate ligament tissue engineering were comprehensively reviewed with focus on reconstituting the ligament with biological function through tissue engineering methods. Prospect along this way was evaluated, and some critical issues to be solved were analyzed. The selection and application of appropriate source cells, biological scaffold, surface modification, and growth modulators used in this tissue engineering were particularly discussed.

**Key words:** Anterior cruciate ligament; Tissue engineering; Research progress; Biological material

前交叉韧带(anterior cruciate ligament, ACL)损伤是较常见的膝关节损伤。ACL损伤后自身修复能力差,往往需进行手术重建。临床上常使用自体移植物、异体移植物和人工合成材料进行ACL重建。自体 and 异体移植物重建交叉韧带虽然是目前临床手术的主流选择,如常见的自体髌腱或半腱肌移植具有较高的强度,在附丽位点能够获得骨-骨或腱-骨愈合。但对自体供区会继发膝前疼痛、髌腱炎、髌下脂肪垫挛缩、相应部位髌骨骨折、腓绳肌缺失等并发症。而异体移植重建不仅材料来源少,而且有免疫排斥反应甚至有传播疾病的危险。作为生

物移植物,自体 and 异体移植都要经历组织坏死、血管重建、细胞增殖和塑形成熟"韧带化"的过程,移植物强度明显下降,影响术后效果。长期以来众多研究者一直致力于人工韧带的研究。近年来随着组织工程技术的发展,利用组织工程方法重建ACL也逐渐成为新的研究热点。

组织工程的方法就是采用工程学及生命科学的原理和方法,模拟正常组织的功能结构,以此重建生物替代物,恢复缺损组织的功能。利用组织工程的方法来构建人工韧带的研究与临床应用经历了复杂的过程。人工韧带具有无供区并发症、使用方便、早

收稿日期:2009-06-01

作者简介:吕永钢,研究方向:生物力学与组织修复工程。

通讯作者:杨力,教授,博士生导师。电话:13068312997;传真:023-65111802;E-mail:liyong@cqu.edu.cn

期康复、无疾病传播危险等许多明显优势。如下将从完备的组织工程需要的四项基本条件,即结构支架、组织特殊分化细胞、生物调制因子(生长因子和细胞因子)、机械调节因子展开说明 ACL 组织工程的研究现状。

**结构支架:**理想的材料,应该具备持续高强度、耐磨损、无组织反应等基本特性,并具有正常韧带的功能,同时允许有生理排列、再生新韧带倾向的组织逐渐长入。截至上世纪末,已有多种类型的人工韧带被植入体内,其中有许多著名的产品,包括 Gore-Tex, Leeds-Keio, Kennedy 等。为保持人工韧带的力学特性,研究者最先采用了系列非降解材料,但都具有一定的缺陷。完全合成的碳纤维韧带,因在关节和淋巴内释放磨损颗粒,引起显著的炎症反应。以碳支架结合胶原或聚酯、聚四氟乙烯纤维束合成的聚合物短期效果令人满意,但是长期随访结果不近人意。材料力学强度和抗摩擦性质较差,疲劳断裂发生率高以及材料和组织之间的生物相容性较差是阻碍其临床推广的主要因素。涤纶和聚丙烯等带孔的纤维织物,理论上允许周围组织迁移长入,再生具有功能的韧带,同样因不可吸收而引发显著的慢性炎症反应,引起移植物失败和断裂。在纤维织物上种植成纤维细胞后虽然可再植入体内,但减少炎症反应的作用有限。对这些合成的永久支架组织学研究显示类似瘢痕和肉芽肿,不是正常韧带的有序胶原纤维。

随着组织工程学的兴起,组织工程学人工韧带作为前交叉韧带重建材料再次得到人们的重视。组织工程学人工韧带是综合生命科学和工程学等学科的发展,使用生物纤维和合成材料作为韧带支架,在体外和体内促进细胞和组织的黏附和生长,以替代正常的前交叉韧带。一般认为理想的组织工程学人工韧带应具有如下的性质:①对人体没有毒害,在体内不引起无菌性炎症(无免疫排斥反应);②作为韧带修复的支架,具有良好的力学性能,能够模拟正常韧带的生理功能;③能够促进周围组织的附着和韧带组织的修复与生长;④在体内可逐渐生物降解,降解的同时不引起韧带力学性质的显著下降。目前更多学者开始进一步研究生物降解支架,其中主要以胶原、天然蚕丝、人工合成聚合物,以及它们的混合材料作为韧带支架。这些材料都表现出良好的生物

相容性,能够促进细胞的黏附、生长、分泌,并能逐渐生物降解。使用胶原支架的韧带重建,已经产生特定位点重新塑形、在隧道附两点成骨、韧带样过渡区及关节内区域韧带样胶原排列的效果。也有人以胶原纤维或在胶原纤维上种植成纤维细胞,试图再生新韧带。这些方法的主要缺陷为胶原支架是异源的,具有相似的相关并发症,同时不能保持良好的力学性质。早期的合成材料人工韧带往往使用普通的2-D 编织技术,抗疲劳强度较差,多次拉伸后不能恢复其初始的长度和力学强度,进而引起断裂。使用3-D 编织技术和表面孔隙化设计增强人工韧带的力学强度,促进细胞的黏附生长,大大增加了韧带的力学强度和抗疲劳性,即使部分的纤维结构撕裂也不显著下降其力学强度。蚕丝,人工可降解聚合物具有良好的力学性质、生物相容性、可控降解性,是目前应用韧带修复的优良替代物。Kaplan 等人利用三维编织技术和天然脱胶蚕丝制备的三维支架,力学性质得到明显改善,细胞生长方向也有序排列,然而,其明显缺陷是内部空间过于狭小,新生韧带无法在内部生长。Cato T. Laurencin 等人也利用了3D 编织法将聚乳酸纤维材料作为韧带替代物,并植入体内,缺点同样是韧带内部的血管生成与细胞浸润不够充分。

**组织特殊分化细胞:**在生物支架摸索前进的基础上,针对组织工程 ACL 种子细胞的选择有了更具体的要求:①能够黏附于支架材料的表面并大量增殖;②分泌细胞外基质成分如胶原、基质蛋白等,进一步构建韧带材料;③分离和培养方法简单易行,同时细胞具有较长的增殖周期。因此,成纤维细胞和间充质干细胞可成为待选细胞。但 ACL 成纤维样细胞分化程度高,在体外增殖缓慢,多次传代后韧带细胞甚至丧失增殖能力。因此,以韧带成纤维细胞作为韧带组织工程的种子细胞仍存在以上问题。而骨髓基质干细胞(bone marrow stromal cells, BMSC)具有向多种组织细胞分化的潜能,可以促进韧带组织修复。研究发现分离培养的 BMSC 分泌细胞外基质(ECM)能力强、细胞增殖快,认为就细胞增殖而言,作为组织工程 ACL 的种子细胞, BMSC 优于其它几种韧带细胞。但韧带细胞表面没有特殊标记, BMSC 如何向韧带细胞诱导分化尚不明确。而且 BMSC 能否在关节内环境下继续增殖并促进韧带修

复尚不清楚。因此 BMSC 要作为组织工程 ACL 的种子细胞尚需进行进一步研究。最新研究表明周期性应力刺激能够有效促进 BMSC 的生长和分化,细胞基质成分中胶原蛋白 I 和 III、粘蛋白 C 等明显表达增加,同时组织学表现上,细胞形态类似于成纤维细胞,排列有序,其长轴方向均垂直于力场方向。作者认为应力刺激是骨髓间充质干细胞向前交叉韧带组织分化必须的,但需要对合适的应力刺激的强度、时间、频率以及体内实验等进一步的探讨。

细胞与材料的黏附是细胞迁移、分化和增殖的基础。由于生物材料表面的疏水性,细胞的黏附能力相对较差,适当采用材料表面修饰是提高细胞黏附生长的重要手段。Susan Sofia 等人用 RGD 多肽修饰蚕丝支架表面,S Ramakrishna 等利用 Fibronectin 和 Lamin 修饰静电纺丝纳米纤维,都使得细胞与材料表面相互作用得到充分的改善,细胞增殖与迁移也朝着更有利的方向发展。

生物调制因子:韧带损伤后,存在于局部环境中的细胞因子,生长因子对于激发序列性炎症、增生和重新塑形来说是十分重要的。体外研究已经证实 EGF 诱导韧带成纤维细胞的增殖,可诱导糖蛋白合成,但减少 I 型胶原的合成。IGF-I 可刺激细胞增殖、I 型胶原合成和糖蛋白合成。TGF- $\beta$  治疗老鼠内侧副韧带可其断裂的力量、强度和能量均增大,TGF- $\beta$  最有希望成为促进交叉韧带生长的重要因子。经细胞因子处理的韧带细胞种植在生物降解聚

合物上,可增强其增殖和基质合成能力。最理想的可控制释放系统可能是将这些细胞因子直接加入生物降解聚合物上,同时提供产生组织工程韧带的三维框架。K-L Sung 等人曾提出鸡尾酒式疗法治疗前交叉韧带损伤,其中包括生长因子,基质金属蛋白酶组织抑制剂,炎症阻断剂等多种成分。

机械调节因子:组织工程韧带替代物必须固定骨上后才能发挥作用,因此机械调节因子在中间起到非常重要的作用,只有在骨和新韧带之间形成生物学附丽后,该韧带才能发挥长久的替代功能。骨长入可能受到组织工程韧带的生物化学和结构特性影响,诱导韧带和其下方骨之间形成纤维软骨区能更有效地降低软组织和硬组织间的应力集中。HH Lu 等人在 08 年提出成骨细胞与韧带成纤维细胞共培养技术应用于韧带修复,提高纤维软骨力学性质,在细胞水平上拓宽了韧带组织工程修复的领域。

综合应用生物降解聚合物技术、干细胞技术、细胞因子治疗、体外细胞培养等组织工程学技术,将会有助于进一步确定韧带修复替代的生物学基本理论,开发出一种新的韧带替代技术。目前,组织工程 ACL 在某些方面取得了一定的进展,但与临床要求尚有一段距离,很多方面仍需进一步研究和探索,如促进人 ACL 细胞快速大量增殖的技术、生长因子的持续表达、理想的组织工程 ACL 支架材料的研制、组织工程 ACL 的固定、支架材料与骨面之间的愈合、如何促进支架材料的血管化和韧带化等。