

再生工程技术在肩袖损伤修复中的应用

李俞锋 赵金忠

摘要 肩袖损伤仅采用手术治疗难以获得较好愈合。再生工程技术涉及多种学科理念和方法,包括但不限于提供生长因子、干细胞移植和组织工程技术等方法,可主动促进肌腱/腱骨愈合和组织再生,最终达到修复和重建的目的。该文就目前再生工程技术在肩袖损伤修复中的应用研究作一综述,并探讨该技术应用于肩袖修复的发展方向。

关键词 再生工程;肩袖损伤;肩袖修复

DOI: 10.3969/j.issn.1673-7083.2020.05.001

肩袖损伤是常见的需外科干预的损伤之一^[1]。肩袖自愈能力较差,外科干预疗效较好,其疼痛缓解率可达85%~95%^[2-3]。然而,手术治疗有其局限性,对于肩袖损伤仅采用手术治疗难以获得较好愈合^[3]。研究表明,手术治疗肩袖损伤,损伤部位无法达到解剖结构的生物学修复,而是形成反应性瘢痕组织,进而影响肌腱愈合^[4]。克服肩袖修复手术治疗的局限性,改善肩袖修复效果,降低再损伤率,一直是肩袖修复研究的热点。

再生工程方法涉及材料工程、细胞工程、生物物理学、发育生物学和临床移植学等多学科领域,已在骨骼肌再生应用中发挥重要作用^[5]。再生工程技术包括但不限于提供生长因子、干细胞移植和组织工程技术等方法,可主动促进肌腱/腱骨愈合和组织再生,最终达到修复和重建的目的。我们回顾相关文献,就该技术在肩袖损伤修复中的应用研究进行综述,并探讨其应用于肩袖修复的发展方向。

1 基于提供生长因子的策略

生长因子一直是发育生物学领域的研究热点。生长因子具有引导细胞分化和增殖成为组织的能力,在肌肉修复和再生方面也有巨大潜能^[6]。再生工程中的生长因子疗法主要通过提供生长因子来促进工程化组织的发生、发育,从而促进肌腱愈合^[7]。近年,提供内源性生长因子以生物学方法促进肌腱愈合受到极大关注,骨形态发生蛋白(BMP)家族、碱性成纤

维细胞生长因子(bFGF)、转化生长因子(TGF)- β 和血小板衍生生长因子(PDGF)等多种生长因子在肌腱愈合过程中均存在内源性表达^[8]。

1.1 直接提供生长因子

BMP、bFGF、TGF- β 等生长因子能增加胶原蛋白含量,进而影响肌腱愈合。Pauly等^[9]研究发现,BMP-2、BMP-7可诱导肌腱细胞产生I型胶原,改善肩袖肌腱愈合。Tokunaga等^[10]的研究表明,bFGF可诱导肌腱祖细胞生长,上调腱调蛋白表达和促进肌腱细胞再生,从而改善修复后肩袖的生物力学性能和组织学外观。Davies等^[11]进一步研究发现,TGF- β 通过阻止成纤维/成脂祖细胞凋亡,从而减轻肩袖撕裂后冈上肌肌纤维出现脂肪浸润和萎缩的结局。Hee等^[12]将重组人PDGF-BB装载于牛I型胶原基质上,输送至绵羊急性肩袖损伤模型的受伤部位,明显改善了肩袖的生物力学性能和形态外观。不过,Kovacevic等^[13]的研究认为,尽管PDGF在愈合早期能促进细胞增殖,但到了愈合后期,愈合部位无法形成结构上更加有序或更牢固的附着点。

1.2 提供富血小板血浆

富血小板血浆(PRP)含有多种与肌腱愈合相关的生长因子^[14],如PDGF、表皮生长因子、TGF- β 1和胰岛素样生长因子-1等。一项系统综述研究表明,肩袖撕裂患者在手术治疗时联合使用PRP注射可降低肩袖修复失败的风险^[15]。尽管PRP可作为生物补充剂提高肩袖愈合率,但在动物实验的应用中愈合率仍较低^[16]。此外,PRP分泌的生长因子促进肌腱愈合的分子机制仍不清楚,相关研究仍在进行中。

基金项目: 国家自然科学基金(31972923,81772341)、国家重点研究发展计划(2018YFC1106200,2018YFC1106202)

作者单位: 200233, 上海交通大学附属第六人民医院运动医学科

通信作者: 赵金忠 E-mail: zhaojinzhong@vip.163.com

1.3 输送生物活性分子

输送生物活性分子以促进肩袖肌腱的外科修复一直是研究热点。一种方法是将生长因子置于组织工程支架及涂层缝合线中,或将其溶解于纤维蛋白密封剂中,局部输送到肌腱修复部位。另一种方法是利用基因工程技术,将目的基因或DNA转移到细胞,使其在受体细胞内复制、转录、翻译和表达,产生所需的生长因子,然后将基因编辑细胞移植至受伤部位。基因工程可解决大多数生长因子有效时间短暂以及需要重复给药的问题,但缺点是转导效率难以控制,不能有效控制基因产物的表达^[17]。

近年,部分生长因子的临床研究存在争议,缺乏进一步的基础实验研究,特别是在肩袖修复后肌腱愈合方面^[18]。由于肌腱发生发育及损伤相关的分子机制尚不完全清楚,在大规模临床应用前,还需开展进一步研究。

2 基于干细胞移植的策略

干细胞是一类具有自我更新潜能的未分化细胞,能在特定条件下分化为多种细胞类型。在肌肉骨骼再生研究领域,常用的干细胞是骨髓间充质干细胞(BMSC)和脂肪源性干细胞(ADSC)^[19]。这两类干细胞几乎可分化为所有结缔组织谱系细胞,在某些生长因子或机械应力的刺激下,它们可分化为肌腱细胞和组织^[20]。

2.1 BMSC 和 ADSC 的移植

已有文献报道 BMSC 和 ADSC 被用于临床肩袖撕裂治疗。研究表明,纤维蛋白胶原载体装载 BMSC 对腱骨愈合具有积极影响,移植物和骨骼间有纤维软骨形成,可促进腱骨愈合^[21]。与仅使用生物支架植入物相比,装载自体肌腱细胞的植入物可更好地促进肩袖肌腱的愈合和重塑^[22]。Hernigou 等^[23]研究发现,给肩袖撕裂患者先注射自体 BMSC 再进行手术,肩袖再撕裂率较低。Kim 等^[24]在行肩袖修复手术时于关节镜下注射纤维蛋白胶原装载的 ADSC,他们对术后患者随访 10 年发现肩袖再撕裂率较低。Gulotta 等^[25]研究认为,BMSC 需联合应用多种生长因子才能促进肩袖愈合。此外,BMSC 在体内促进肌肉再生和改善肌肉功能的机制尚不清楚,需要开展进一步研究。

2.2 其他干细胞

除上述 2 种干细胞,来源于肌腱组织的肌腱干细胞(TSPC)也逐渐引起人们关注。有研究表明,人和大鼠的肌腱中含有少量具有普通干细胞特性的

细胞群,这些细胞群在体外扩增并移植入体内后可以再生肌腱样组织,该研究表明 TSPC 具有克隆性、多能性和自我更新能力^[26]。Cheng 等^[27]的研究也证实,纤维蛋白胶原载体装载 TSPC 可以改善腱骨界面结构,增强附着强度,从而促进腱骨愈合。

基于干细胞移植的策略,在治疗肩袖损伤方面具有非常好的临床前景,而最佳候选细胞应具有较好的增殖、存活、归巢和移植能力^[5]。因此,对细胞迁移和归巢机制进行更深入的研究,探索并优化细胞增殖和移植的条件,有助于提高目标组织的再生效率。

3 基于组织工程的策略

组织工程是一种多学科交叉的生物工程方法,它使用生物活性分子、细胞和支架的组合再造功能性组织,目的是诱导组织的修复、替换或再生^[28]。常用生物支架可分为天然聚合物、合成聚合物和骨传导材料支架等^[29]。

3.1 天然聚合物支架

天然聚合物具有优良的生物相容性和生物降解性,其自身的生物活性可诱导组织发育,是肩袖再生中一类重要的生物材料^[30]。常见天然聚合物有胶原、壳聚糖、丝素蛋白、纤维蛋白和细胞外基质等,治疗肩袖撕裂时胶原和壳聚糖常用于促进肌腱再生^[29]。van Kampen 等^[31]将 I 型胶原纤维支架植入绵羊冈下肌腱表面,6 周后发现该支架能诱导产生完整致密、定向规则的腱样组织,肩袖的肌腱厚度增加。Musson 等^[32]在肩袖撕裂大鼠模型的实验研究中证实,丝素蛋白和纤维蛋白作为组织工程载体均可在一定程度上促进肌腱组织再生。

近年,细胞外基质、合成聚合物及其组合的支架已被美国食品和药物管理局批准,并已作为人体肩袖修复的医疗器械上市^[33]。目前,临床研究中常见商用生物支架有 GRAFTJACKET® 人源性真皮胶原移植物和 Restore® 骨科软组织移植物(来源于猪的小肠粘膜下层),上述支架经脱细胞处理后,在治疗肩袖损伤方面显示出良好的临床疗效。然而,Bryant 等^[34]的研究认为,对中度肩袖撕裂患者使用小肠粘膜下层增强的肩袖修复术,疗效并无提高。

3.2 合成聚合物支架

与天然聚合物相比,合成聚合物除具有良好的生物相容性外,还能提供优异的机械性能,因此被广泛应用于组织工程中^[29]。根据不同的组织工程目的,合成聚合物支架又可分为可降解和不可降解聚

合物支架。不可降解聚合物支架在肩袖修复中可起到永久支撑作用,同时具有良好的组织相容性和较高的抗张强度。

有关可降解聚合物支架的研究已有诸多报道。Moffat 等^[35]首次报道使用聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)纳米纤维支架进行肩袖再生的研究。他们的研究表明,该支架对人肩袖成纤维细胞反应具有显著影响,可诱导细胞在对齐的纳米纤维支架上形成仿生基质,促进肩袖修复,具有促肌腱再生的巨大潜力。Zhao 等^[36]研究表明,单一 PLGA 纤维膜有助于细胞的附着和增殖,并可促进腱骨重塑,而载有 bFGF 的 PLGA 纤维膜对促进腱骨愈合效果更明显。

3.3 骨传导材料支架

骨传导材料具有优异的生物相容性、耐腐蚀性和高压缩性,且能使骨祖细胞迁移到植入物的多孔空间中,诱导碳酸羟基磷灰石层和新骨形成^[29]。Ma 等^[37]设计了一种纳米羟基磷灰石/聚醚醚酮生物复合材料,发现该材料可促进小鼠成骨前体细胞的附着、迁移、增殖和成骨分化。Kovacevic 等^[38]在肩袖撕裂大鼠模型研究中证实,在腱骨界面破裂部位注射骨传导钙-磷基质能促进腱骨愈合。

Sharp 等^[39]研究认为,再生工程技术是组织工程技术的扩展,它以组织工程技术为基础,结合材料科学、干细胞科学、发育生物学等不同学科技术,开发新工具,利用这些工具来再生复杂组织。目前,再生工程技术在肩袖损伤修复临床研究中的重点是以生物支架为基础,加入适度生长因子或将干细胞植入体内,诱导产生功能性组织,以达到加快肩袖愈合的目的。支架能提供适宜的细胞微环境,可诱导细胞迁移、生长和分化,从而诱导组织再生。Narayanan 等^[40]研究认为,组织再生的成功取决于组织支架的生物活性。然而,上述支架存在一定的毒性,可引起不同程度的炎症反应^[41]。研究表明,天然聚合物中残留的生物活性抗原可能导致强烈的免疫反应^[42],而合成聚合物或经脱细胞处理的人源性真皮基质产生的炎症反应较轻,并可主动诱导宿主组织重塑^[43]。降低生物材料的毒性、免疫原性或免疫反应是今后研究的方向。目前,生长因子或干细胞负载支架在肌腱愈合中的作用机制尚不清楚,相关临床试验研究较少。

4 结语

目前,再生工程技术应用于肩袖损伤修复主要

基于 3 个领域:①生长因子,单一或多种生长因子搭载合适载体持续或反复释放于作用部位以促进肩袖再生;②干细胞,多能干细胞与生物活性材料结合可诱导细胞的增殖、分化,直至组织再生;③组织工程和材料工程,在优化组织工程支架基础上,整合生长因子和干细胞,协调多因素促进肌腱/腱骨愈合。近年来,生长因子/干细胞与生物相容性支架结合是一大趋势。另一方面,肩袖损伤后造成的肌肉萎缩也不容忽视,目前还没有利用再生工程技术改善肩袖损伤肌肉萎缩的相关研究。尽管开展了大量临床前研究,生长因子或干细胞搭载支架在肌腱/腱骨愈合中发挥作用的分子机制仍不清楚,要将其应用于临床还需开展更多研究。

参考文献

- [1] Oliva F, Piccirilli E, Bossa M, et al. I. S. Mu. L. T - Rotator Cuff Tears Guidelines [J]. *Muscles Ligaments Tendons J*, 2016, 5(4): 227-263.
- [2] Kataoka T, Kokubu T, Muto T, et al. Rotator cuff tear healing process with graft augmentation of fascia lata in a rabbit model[J]. *J Orthop Surg Res*, 2018, 13(1): 200.
- [3] Randelli P, Cucchi D, Ragone V, et al. History of rotator cuff surgery [J]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2015, 23(2): 344-362.
- [4] Patel S, Gualtieri AP, Lu HH, et al. Advances in biologic augmentation for rotator cuff repair[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2016, 1383(1): 97-114.
- [5] Tang X, Daneshmandi L, Awale G, et al. Skeletal muscle regenerative engineering[J]. *Regen Eng Transl Med*, 2019, 5(3): 233-251.
- [6] Negroni E, Gidaro T, Bigot A, et al. Invited review: Stem cells and muscle diseases: advances in cell therapy strategies [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2015, 41(3): 270-287.
- [7] Passipieri JA, Christ GJ. The potential of combination therapeutics for more complete repair of volumetric muscle loss injuries: the role of exogenous growth factors and/or progenitor cells in implantable skeletal muscle tissue engineering technologies [J]. *Cells Tissues Organs*, 2016, 202(3/4): 202-213.
- [8] Fang CB, Yan HB, Guo XH, et al. Correlation of the expression of IGF-1, TGF-beta 1 and BMP12 with tendon degeneration caused by overused tendon of the long head of biceps brachii[J]. *J Biomater Tissue Eng*, 2019, 9(6): 778-782.
- [9] Pauly S, Klatte F, Strobel C, et al. BMP-2 and BMP-7 affect human rotator cuff tendon cells in vitro[J]. *J Shoulder Elbow Surg*, 2012, 21(4): 464-473.
- [10] Tokunaga T, Shukunami C, Okamoto N, et al. FGF-2 stimulates the growth of tenogenic progenitor cells to

- facilitate the generation of tenomodulin-positive tenocytes in a rat rotator cuff healing model[J]. *Am J Sports Med*, 2015, 43(10): 2411-2422.
- [11] Davies MR, Liu X, Lee L, et al. TGF- β small molecule inhibitor SB431542 reduces rotator cuff muscle fibrosis and fatty infiltration by promoting fibro/adipogenic progenitor apoptosis[J]. *PLoS One*, 2016, 11(5): e0155486.
- [12] Hee CK, Dines JS, Dines DM, et al. Augmentation of a rotator cuff suture repair using rhPDGF-BB and a type I bovine collagen matrix in an ovine model[J]. *Am J Sports Med*, 2011, 39(8): 1630-1639.
- [13] Kovacevic D, Gulotta LV, Ying L, et al. rhPDGF-BB promotes early healing in a rat rotator cuff repair model[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2015, 473(5): 1644-1654.
- [14] Singh H, Voss A, Mazzocca AD, et al. Biological augmentation of rotator cuff repair: platelet-rich plasma (PRP) and bone marrow aspirate (BMA)[J]. *Tech Shoulder Elbow Surg*, 2015, 16(4): 107-114.
- [15] Cavendish PA, Everhart JS, Dibartola AC, et al. The effect of perioperative platelet-rich plasma injections on postoperative failure rates following rotator cuff repair: a systematic review with meta-analysis[J]. *J Shoulder Elbow Surg*, 2020, 29(5): 1059-1070.
- [16] Tsekos D, Konstantopoulos G, Khan WS, et al. Use of stem cells and growth factors in rotator cuff tendon repair[J]. *Eur J Orthop Surg Traumatol*, 2019, 29(4): 747-757.
- [17] Prabhath A, Vernekar VN, Sanchez E, et al. Growth factor delivery strategies for rotator cuff repair and regeneration[J]. *Int J Pharm*, 2018, 544(2): 358-371.
- [18] Chung SW, Song BW, Kim YH, et al. Effect of platelet-rich plasma and porcine dermal collagen graft augmentation for rotator cuff healing in a rabbit model[J]. *Am J Sports Med*, 2013, 41(12): 2909-2918.
- [19] Lee J, Lee CY, Park JH, et al. Differentiation of adipose-derived stem cells into functional chondrocytes by a small molecule that induces Sox9[J]. *Exp Mol Med*, 2020, 52(4): 672-681.
- [20] Bianco ST, Moser HL, Galatz LM, et al. Biologics and stem cell-based therapies for rotator cuff repair[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2019, 1442(1): 35-47.
- [21] Chen P, Cui L, Chen GF, et al. The application of BMP-12-overexpressing mesenchymal stem cells loaded 3D-printed PLGA scaffolds in rabbit rotator cuff repair[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 138: 79-88.
- [22] Huegel J, Kim DH, Cirone JM, et al. Autologous tendon-derived cell-seeded nanofibrous scaffolds improve rotator cuff repair in an age-dependent fashion[J]. *J Orthop Res*, 2017, 35(6): 1250-1257.
- [23] Hernigou P, Flouzat Lachaniette CH, Delambre J, et al. Biologic augmentation of rotator cuff repair with mesenchymal stem cells during arthroscopy improves healing and prevents further tears: a case-controlled study[J]. *Int Orthop*, 2014, 38(9): 1811-1818.
- [24] Kim YS, Sung CH, Chung SH, et al. Does an injection of adipose-derived mesenchymal stem cells loaded in fibrin glue influence rotator cuff repair outcomes? A clinical and magnetic resonance imaging study[J]. *Am J Sports Med*, 2017, 45(9): 2010-2018.
- [25] Gulotta LV, Kovacevic D, Ehteshami JR, et al. Application of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a rotator cuff repair model[J]. *Am J Sports Med*, 2009, 37(11): 2126-2133.
- [26] Guo D, Li H, Liu Y, et al. Fibroblast growth factor-2 promotes the function of tendon-derived stem cells in Achilles tendon restoration in an Achilles tendon injury rat model[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 521(1): 91-97.
- [27] Cheng B, Ge H, Zhou J, et al. TSG-6 mediates the effect of tendon derived stem cells for rotator cuff healing[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2014, 18(2): 247-251.
- [28] Law JX, Liao LL, Aminuddin BS, et al. Tissue-engineered trachea: a review[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2016, 91: 55-63.
- [29] Zhao S, Su W, Shah V, et al. Biomaterials based strategies for rotator cuff repair[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2017, 157: 407-416.
- [30] Song R, Murphy M, Li C, et al. Current development of biodegradable polymeric materials for biomedical applications[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 3117-3145.
- [31] van Kampen C, Arnoczky S, Parks P, et al. Tissue-engineered augmentation of a rotator cuff tendon using a reconstituted collagen scaffold: a histological evaluation in sheep[J]. *Muscles Ligaments Tendons J*, 2013, 3(3): 229-235.
- [32] Musson DS, Naot D, Chhana A, et al. In vitro evaluation of a novel non-mulberry silk scaffold for use in tendon regeneration[J]. *Tissue Eng Part A*, 2015, 21(9/10): 1539-1551.
- [33] Smith RD, Carr A, Dakin SG, et al. The response of tenocytes to commercial scaffolds used for rotator cuff repair[J]. *Eur Cell Mater*, 2016, 31: 107-118.
- [34] Bryant D, Holtby R, Willits K, et al. A randomized clinical trial to compare the effectiveness of rotator cuff repair with or without augmentation using porcine small intestine submucosa for patients with moderate to large rotator cuff tears: a pilot study[J]. *J Shoulder Elbow Surg*, 2016, 25(10): 1623-1633.
- [35] Moffat KL, Kwei AS, Spalazzi JP, et al. Novel nanofiber-based scaffold for rotator cuff repair and augmentation[J]. *Tissue Eng Part A*, 2009, 15(1): 115-126.
- [36] Zhao S, Zhao J, Dong S, et al. Biological augmentation of rotator cuff repair using bFGF-loaded electrospun poly (lactide-co-glycolide) fibrous membranes [J]. *Int J*

Nanomedicine, 2014, 9: 2373-2385.

[37] Ma R, Tang S, Tan H, et al. Preparation, characterization, and in vitro osteoblast functions of a nano-hydroxyapatite/polyetheretherketone biocomposite as orthopedic implant material[J]. Int J Nanomedicine, 2014, 9: 3949-3961.

[38] Kovacevic D, Fox AJ, Bedi A, et al. Calcium-phosphate matrix with or without TGF- β 3 improves tendon-bone healing after rotator cuff repair[J]. Am J Sports Med, 2011, 39(4): 811-819.

[39] Sharp PA, Langer R. Research agenda. Promoting convergence in biomedical science[J]. Science, 2011, 333(6042): 527.

[40] Narayanan N, Jiang C, Uzunalli G, et al. Polymeric electrospinning for musculoskeletal regenerative engineering [J]. Regen Eng Transl Med, 2016, 2(2): 69-84.

[41] Amini MH, Ricchetti ET, Iannotti JP, et al. An update on scaffold devices for rotator cuff repair[J]. Tech Shoulder Elb Surg, 2017, 18(3): 101-112.

[42] Bilodeau C, Goltsis O, Rogers IM, et al. Limitations of recellularized biological scaffolds for human transplantation [J]. J Tissue Eng Regen Med, 2020, 14(3): 521-538.

[43] Banyard DA, Bourgeois JM, Widgerow AD, et al. Regenerative biomaterials: a review [J]. Plast Reconstr Surg, 2015, 135(6): 1740-1748.

(收稿:2020-04-28)

(本文编辑:李圆圆)

• 敬告读者 •

为了更好地服务读者和作者,提高稿件的处理速度和效率,缩短文章发表周期,我刊现已采用远程采编系统。进入官方网站(<http://gjgkx.paperopen.com>),点击左上侧“作者投稿”栏,登记作者信息,注册成功后即可在线投稿。或可直接将稿件以附件形式发送至官方邮箱(intjorthop@163.com)。请作者以实名、常用电子邮箱和移动电话登记,以便于后续与您联系。

《国际骨科学杂志》编辑部