

软骨移植及关节软骨组织工程技术研究进展

张兰玲,管剑龙,韩星海(第二军医大学长海医院风湿免疫科,上海 200433)

[摘要] 关节软骨缺损是临床常见的疑难病例,目前的治疗包括自体或异体骨软骨移植修复、软骨膜或骨膜移植修复及软骨细胞移植修复。组织工程技术的发展使软骨移植进入了一个新的发展时期,本文就软骨移植及关节软骨组织工程技术进展进行综述。

[关键词] 软骨缺损;软骨移植;组织工程;综述文献

[中图分类号] R 681.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2004)01-0101-04

Study on transplantation of cartilage and articular cartilage tissue engineering

ZHANG Lan-Ling, GUAN Jian-Long, HAN Xing-Hai (Department of Reumatic Diseases, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] The repair of articular cartilage defects has been a difficult problem. Presently cartilaginous autograft and allograft, periosteal and perichondral graft and transplantation of chondrocytes had been widely applied to repair cartilaginous defects. The application of tissue engineering might be a method of hope. This article reviewed the progression of cartilage transplantation and the tissue engineering.

[KEY WORDS] defects of cartilage; cartilaginous transplantation; tissue engineering; review literature

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2004, 25(1):101-104]

关节软骨缺损是常见的疑难病症之一。外伤、肿瘤或骨性关节炎等原因所造成的关节表面缺损,由于软骨的再生能力低而难以自行修复。目前临床多采用自体或异体骨软骨移植修复、软骨膜或骨膜移植修复、软骨细胞移植修复等方法。随着材料学、生命科学以及相关物理、化学学科的发展,人们提出了一种新的方法——组织工程,它为关节软骨缺损的修复提供了新的思路与途径。本文就应用软骨移植及组织工程技术修复关节缺损的研究进展进行综述。

1 骨软骨移植修复

骨软骨移植即用带有活力软骨细胞的正常透明软骨修复软骨缺损,具有保持软骨生物化学和生物机械特性的优点。有新鲜自体移植、新鲜异体移植、延期贮存异体移植等方法。操作过程大致相同,首先在正常关节面制作移植块,移植块包含软骨、松质骨,并保持软骨与软骨下松质骨紧密连接和完整,然后在软骨缺损处按移植块大小凿一穴槽,再将移植块稍加压力牢固嵌于穴槽中。许多实验和临床研究均证实采用骨软骨移植的软骨细胞可存活且缺损被成功修复。杨述华等^[1]采用自体髌骨外侧软骨移植治疗兔膝关节软骨缺损,术后6周时植骨全部成活,16周时修复面可见典型软骨细胞,修复面平滑,生化测定证实移植后软骨蛋白、胶原及细胞含量与正常接近。Gautier等^[2]对11例距骨软骨缺损病变达Ⅲ~Ⅳ级的患者行自体骨软骨移植术,缺损面积平均18 mm×10 mm,术后6~12个月患者即可慢跑,1年后可进行冲撞活动,踝关节CT显示移植物与周围正常组织紧密结合,其中3例患者行MRI检查示缺损面被正常关节成分所覆盖。自体骨软骨移植为治疗关节软骨缺损的理想方法之一,但为了减少对供体部位的损害,适用于小面积(≤2

cm²)、孤立的关节软骨缺损,由于儿童软骨活性更高,故该方法对12岁以下儿童的软骨缺损尤为适用。

骨软骨同种异体移植,由于其相对容易获得,不受面积大小限制,越来越多地被用于替换受损关节面。20世纪90年代Czitrom等^[3]总结报道新鲜同种异体骨软骨移植的远期成功率稳定在75%~80%,其软骨通过关节滑液取得营养,软骨下骨通过爬行替代再血管化而重新形成并保持其完整性。Aubin等^[4]对62例膝关节软骨缺损行新鲜异体骨软骨移植的患者进行了平均长达10年的随访,移植物10年存活率85%,15年为74%,关节功能恢复良好,10年HSSS(hospital for special surgery knee score)评分83,对修复膝关节软骨大面积缺损不啻为一种有效的方法。但由于来源问题比较复杂和潜在的免疫排斥反应使得同种异体骨软骨移植难以广泛应用。同种异体骨软骨移植成功的关键主要是:(1)关节软骨的保存方法及降低其抗原性的方法;(2)宿主方面能有效抑制免疫排斥反应。关于关节软骨的保存方法,包括-30℃、-70℃冷冻保存、冻干法、10% DMSO林格液中延迟降温保存法、98%甘油保存液深低温保存法等,可保存软骨,降低其抗原性。随着有效免疫抑制剂的大量开发及免疫抑制剂的应用,关节软骨移植的成功率将进一步提高。

2 软骨膜和骨膜移植修复

软骨膜和骨膜均来源于中胚层,许多研究已证实骨膜或软骨膜移植能生成新骨或软骨,其中自体骨膜游离移植修复

关节面软骨缺损的研究最早开展,临床应用也较多,而软骨膜移植用于修复软骨缺损则始于20世纪70年代中期。国内李文通等^[5]采用游离自体骨膜或带阔筋膜张肌蒂胫骨骨膜或缝匠肌蒂髌骨骨膜移植修复踝、膝及髌关节软骨缺损,术后关节功能不同程度恢复,无融合或强直,患者恢复工作,疼痛完全缓解。崔春爱等^[6]将自体骨膜移植于24例家兔膝关节股骨髁面制作的30 mm×60 mm全层关节软骨缺损区,术后第12周完全修复关节软骨缺损区,修复组织中细胞分布及排列接近周围正常软骨组织。Bouwmeester等^[7]对14例行软骨膜移植(perichondrial transplantation, PT)及11例行软骨下钻孔(drilling procedure, DD)治疗的膝关节软骨缺损患者进行随访,术后所有患者的症状均得到一定程度的改善,10年随访结果发现经PT治疗成功的患者与DD治疗后在HSS及VAS(visual analogue scales)评分上无明显差别。对于同种异体、异种异体骨膜及软骨膜移植的文献报道较少,有文献报道用兔肋软骨膜游离移植修复羊的膝关节实验性关节软骨缺损,84 d后再生软骨形成,基质中Ⅱ型胶原占74%,但随着时间的推移,基质有不断钙化的趋向。虽然骨膜及软骨膜移植修复关节软骨缺损已进行了大量的实验研究并广泛应用于临床,但仍然存在许多问题,如同种异体骨膜或软骨膜移植停用免疫抑制剂后新生软骨是否会被吸收,骨膜和软骨膜移植后新生软骨的质和量有何差别等。

3 软骨细胞移植修复

3.1 异体软骨细胞移植 用同种异体软骨细胞移植治疗马骨关节炎模型,随访第4、8周时发现修复表层大多为纤维细胞,病变未能完全修复,但有软骨存活及修复部位蛋白聚糖水平明显升高,提示软骨细胞移植可明显减轻软骨的破坏。将异体软骨细胞在Ⅰ型胶原蛋白凝胶中进行培养扩增,然后移植入兔内髌及髌骨沟的软骨缺损处,4~48周后移植处有大量透明软骨生成,经组织学和生化学证实修复软骨具有与正常关节组织相似的特性^[8]。但异体移植同样遇到免疫排斥反应的问题,Osiecka等^[9]发现异体软骨细胞移植的小鼠,因淋巴细胞浸润而发生软骨吸收、破坏,并检测到抗软骨细胞毒性抗体,应用环孢素A和2-氯脱氧腺苷可轻度抑制免疫反应,但不能阻止软骨的进一步吸收。Moskalewski等^[10]研究证实同种异体软骨细胞移植的免疫排斥反应比非同种异体移植强烈,联合应用环孢素A及cladribine也不能阻止其发生。

3.2 自体软骨细胞移植 Brittberg等^[11]将软骨细胞注入兔膝关节,用骨膜覆盖于软骨缺损腔中,修复组织逐渐成熟,核素标记证实移植软骨细胞参与软骨缺损的修复。该研究者将自体软骨细胞移植方法应用于临床,23例骨关节炎患者均为继发于外伤或骨关节炎的髌或膝关节炎、经关节镜下刮除术治疗无效者。首先在关节镜下行软骨活检,经酶消化处理后进行体外培养扩增14~21 d,彻底清除病损的软骨深达松质骨,植入软骨细胞并用骨膜覆盖。术后所有患者的临床症状包括关节疼痛、肿胀、骨摩擦音均得到改善,关节交锁则完全消失^[12]。对61例行ACT手术的膝关节软骨缺损患者随

访5~11年发现,不仅临床症状得到明显改善,关节镜活检显示新生软骨的强度达到正常软骨的90%甚至更高,偏振光及碱性红染色均证明其具有透明样物质特性,Ⅱ型胶原免疫染色阳性^[13]。

4 组织工程技术修复

组织工程是利用工程学和生命科学的原理和方法,开发用于恢复、维持和提高损伤组织和器官功能的生物学替代物的新兴综合性交叉学科。随着组织工程技术的发展,人们提出了一种新的软骨细胞培养法,即将体外培养的高浓度的功能相关的自体或异体活细胞种植于天然的或人工合成的、具有良好生物相容性、可降解性和一定三维空间结构的聚合物支架上,形成细胞支架复合物,然后移植入动物或人体内组织缺损部位,形成某种结构和功能的组织和器官,从而完成组织缺损的修复与再造。软骨组织工程研究需要具备的3个主要条件为:(1)足够数量的功能正常的“种子”细胞;(2)适当的细胞外支架-基质;(3)调节“种子”细胞增殖并维持其表型等特征的生长因子。

4.1 “种子”细胞来源 获得足够数量功能正常的“种子”细胞是软骨组织工程技术的必要条件之一,目前用于构建人工软骨组织的细胞主要为自体或异体关节软骨细胞、间充质干细胞(MSCs)以及胚胎干细胞(ES细胞)。

4.1.1 软骨细胞 自体软骨细胞是最常用的“种子”细胞,具有分离、培养简单、同源性好等优点,原代单层培养的软骨细胞能表达Ⅱ型胶原和可聚蛋白多糖等特异性细胞外基质达数日至数周。王跃等^[14]发现人胎关节软骨细胞经4℃冷藏3 d内,细胞仍保持高度活性,从原代到第4代软骨细胞都具有高增殖力,适于作为组织工程用细胞。Schaefer等^[15]发现软骨细胞支架复合物与软骨下缝合后移植,可提高成年兔的大面积软骨缺损修复的有序重建。但由于自体软骨来自于人体正常组织,来源受限,限制了其临床应用。同种异体来源的软骨细胞具有来源广泛、取材容易和一次可获得大量细胞的优点,但移植排斥反应限制了其应用。

4.1.2 间充质干细胞 来源于骨髓、骨膜、软骨膜和肌腱等处,具有多向分化潜能,根据诱导环境的不同可分化为软骨细胞、成骨细胞、成纤维细胞等。其中骨髓基质干细胞取材方便,容易获得,在体外培养扩增过程中不自动分化,体外多次传代后仍然保持角质细胞表型及表达端粒酶活性。骨膜MSCs具有修复大面积关节软骨缺损、容易将移植细胞维持于缺损区、可作为基因转染宿主细胞等优点。Wakitani等^[16]1994年首先报道了自体骨髓MSCs修复兔膝关节软骨大的全厚缺损,术后2周即形成透明软骨,14周缺损的关节软骨和软骨下骨得以修复,但修复的软骨比正常软骨薄,力学测试结果低于正常软骨,而用骨膜来源的MSCs效果更差。采用软骨膜来源的MSCs作为种子细胞可以避免损害关节面,通过改变细胞的培养条件或者增加某种特定的生长因子能够诱导软骨膜来源的MSCs向软骨细胞分化,呈现软骨细胞的表型。Nevo等^[17]观察表明,自体MSCs植入的关节软骨缺损完全修复充填成功率为100%,异体MSCs仅产生了

31%的成功率,并发现不能完全充填缺损。

4.1.3 胚胎干细胞 是一种从早期胚胎分离得到的、能在体外长期培养的高度未分化细胞。因其具有高度未分化特征和发育全能性,有望成为“种子”细胞的新来源。ES细胞具有以下特点:(1)能大量繁殖并保持未分化状态;(2)在一定条件下具有向3个胚层组织和细胞分化的全能性;(3)易于进行基因改造操作;(4)能够形成嵌合体动物从而成为联系细胞和个体之间的桥梁。有文献报道ES细胞在骨形态发生蛋白(BMP)-2和BMP-4作用下分化为软骨细胞^[18]。

4.2 细胞外支架-基质 细胞外支架-基质是细胞附着的基本框架和代谢的场所,其形态和功能直接影响组织的形态和功能,合成或天然的基质支架为植入的细胞提供了依附的支架和可控制的环境,控制细胞的生长,并在植入时作为细胞的载体。聚乳酸(PLA)、聚乙醇酸(PGA)等人工合成聚合物(PLGA)具有不同程度的生物相容性问题,而生物相容性优越的天然聚合物如胶原或纤维蛋白则存在力学性能差和加工成型性能差等缺陷。

4.2.1 聚乳酸、聚乙醇酸及其共聚物 Lohmann等^[19]将小鼠软骨细胞接种于PLGA支架材料上,8周后证明生成了新的软骨组织。Liu等^[20]将分离后的软骨细胞接种于PGA上用于修复猪膝软骨缺损,术后24周组织学证明生成了典型透明样软骨结构且与周围正常软骨、松质骨紧密结合,缺损得到成功修复。

4.2.2 胶原材料 早期利用单层细胞培养技术进行体外软骨细胞扩增,但容易失去原有细胞特征,且难以形成块状有功能的组织。自1989年用I型胶原凝胶的软骨细胞修复兔膝关节取得满意效果后发现,胶原材料制成的软骨支架具有优越的生物相容性,经胶原蛋白凝胶培养的软骨细胞形态稳定,仍保留合成蛋白聚糖和II型胶原的功能。Wambach等^[21]将狗甲状软骨细胞种植在牛I型胶原海绵基质上,进行体外培养,虽然胶原海绵有部分降解,但软骨细胞能长入I型胶原海绵基质中,并产生了II型胶原。Kuriwaka等^[22]发现,将单层培养与三维立体培养软骨细胞相结合不仅可保持细胞表型,还能够获得足够的细胞数和高水平的硫酸软骨素,使软骨-胶原合成物保持一定的强度。

4.2.3 纤维蛋白 以血纤维蛋白单体聚合成凝胶作为基质支架,将软骨细胞-支架复合体植入裸鼠体内,12周后发现新的软骨生成。Ting等^[23]将人的肋骨软骨细胞接种在纤维蛋白凝胶支架上,然后植入裸鼠皮下,也取得了理想的结果。傅捷等^[24]证实软骨细胞能在纤维蛋白胶中增殖并保持其表型和分泌软骨基质。纤维蛋白凝胶不仅能固定移植的软骨细胞,同时也为其在软骨缺损部位产生透明样软骨提供良好的微环境。

4.3 生长因子 软骨组织内含有多种生长因子,它们共同作用于软骨细胞的分裂、生长、成熟、老化各阶段。研究表明,转化生长因子 β (TGF- β)、胰岛素样生长因子(IGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)等生长因子可增加软骨细胞DNA合成,促进软骨细胞增殖,其中bFGF是目前已知最强的促细胞生长因子,作为软骨的有丝分裂原,它促进软骨细

胞增殖并使增殖细胞稳定地向成熟软骨细胞分化。TGF- β 是一簇具有多种功能的蛋白多肽,能诱导MSCs转化为软骨细胞,已证实TGF- β 具有促进软骨细胞增殖、调节其分化和胞外基质合成的能力。BMP是TGF- β 的超家族成员之一,能使体外培养中已表现反分化软骨细胞恢复软骨表型,重新表达软骨细胞特异性物质。用BMP复合纤维蛋白载体修复全厚关节软骨缺损,术后12周修复组织主要为透明软骨或类透明软骨,修复面较平整平滑,与周围组织愈合良好^[25]。IGF在关节软骨中的作用有:(1)刺激细胞分裂增殖;(2)促进蛋白聚糖合成,无论对于未成熟或已分化成熟的软骨细胞,IGF均促进内关节软骨细胞合成代谢;(3)刺激II型胶原的合成。研究表明,软骨生长因子(CDGF)可剂量依赖性促进兔软骨细胞外基质中羟脯氨酸的合成及细胞的增殖与能量合成,与IGF-1联合应用能明显增强对软骨细胞的作用,具有协同效应^[26]。

5 转基因技术修复

转基因技术是将外源性基因通过一定载体导入靶细胞,以补偿靶细胞的基因缺陷或调节靶细胞的蛋白分泌水平,最终使靶细胞获得新的生物学行为或功能的一种高新技术。IL-1可通过上调软骨细胞基质中的金属蛋白酶及前列腺素的表达而对软骨产生降解作用。将含有人IL-1受体拮抗剂cDNA的腺病毒载体转入软骨细胞后植入骨关节炎软骨表面,可分泌高水平IL-1受体拮抗剂,而经治疗的软骨标本在器官培养基中可以抵抗IL-1诱导的蛋白聚糖的降解作用。无论体内或体外试验均已证实,采用病毒载体将目的基因转染至培养的软骨细胞后,可促进大量基质蛋白的合成以提高关节炎软骨的重建^[27]。将在巨细胞病毒启动子/增强子控制下的含有IGF-1的密码顺序,通过腺病毒载体转染至培养中的关节软骨发现,腺病毒IGF-1的浓度对软骨基质基因表达具有强烈的刺激作用,与未转染的细胞相比较,转染细胞对反分化具有更强的抵抗作用,且能保持其正常软骨分子的表型^[28]。将组织工程学与基因治疗相结合,可达到高质量修复关节软骨缺损的目的。有实验发现将遗传修饰后过度表达人IGF-1的牛软骨细胞接种于聚合体支架,然后移植入裸鼠皮下可得到更多数量的软骨细胞^[29]。郭晓东等^[30]用脂质体介导TGF- β 1重组表达质粒转入间充质干细胞MSCs,结果表明骨膜源MSCs可作为关节软骨缺损基因治疗的受体细胞,使TGF- β 1基因得到表达,而且TGF- β 1基因转染除具有拮抗IL-1对MSCs羟脯氨酸合成的抑制作用外,还可抑制基质金属蛋白酶-3、肿瘤坏死因子及干扰素 γ 等创伤和骨关节炎的病理过程中引起关节软骨破坏的多种主要炎症介质的生物活性,从而克服了目前国外正在进行的以IL-1受体拮抗剂(IL-1Ra)基因转染只能拮抗IL-1活性、作用单一的缺点。

虽然软骨自身的修复能力非常有限,目前已有越来越多的生物学方法用于治疗软骨缺损,且取得了一定的疗效,但如何恢复关节软骨的生物化学及力学特点并保持其正常负重功能是治疗成功的最后目的和关键,还需要大量临床流行

病学及前瞻性临床研究进一步证实。

【参考文献】

- [1] 杨述华,李进,杜靖远,等.自体髌骨外侧软骨移植治疗膝关节软骨缺损的实验研究[J].中国矫形外科杂志,1998,5(3):252.
- [2] Gautier E,Kolker D,Jakob RP. Treatment of cartilage defects of the talus by autologous osteochondral grafts [J]. *J Bone Joint Surg(Br)*,2002,84(2):237-244.
- [3] Czitrom AA,Keating S,Gross AE,et al. The viability of articular cartilage in fresh osteochondral allografts after clinical transplantation[J]. *J Bone Joint Surg(Am)*,1990,72(4):574-581.
- [4] Aubin PP,Cheah HK,Davis AM,et al. Long-term followup of fresh femoral osteochondral allografts for posttraumatic knee defects[J]. *Clin Orthop*,2001,391(Suppl):S318-S327.
- [5] 李文通,李华峰,蒲朝晖,等.自体骨膜移植修复骨关节软骨缺损(附14例报告)[J].中国煤炭工业医学杂志,2001,4(8):593-594.
- [6] 崔春爱,杨镇深,陈华勇,等.自体骨膜移植修复关节软骨缺损的实验研究[J].延边大学医学学报,2002,25(1):8-11.
- [7] Bouwmeester PS,Kuijjer R,Homminga GN,et al. A retrospective analysis of two independent prospective cartilage repair studies: autogenous perichondral grafting versus subchondral drilling 10 years post-surgery[J]. *J Orthop Res*,2002,20(2):267-273.
- [8] Wakitani S,Goto T,Young RG,et al. Repair of large full-thickness articular cartilage defects with allograft articular chondrocytes embedded in a collagen gel[J]. *Tissue Eng*,1998,4(4):429-444.
- [9] Osiecka-Iwan A,Hyc A,Moskalewski S. Immunosuppression and rejection of cartilage formed by allogeneic chondrocytes in rats[J]. *Cell Transplant*,1999,8(6):627-636.
- [10] Moskalewski S,Hyc A,Osiecka-Iwan A. Immune response by host after allogeneic chondrocyte transplant to the cartilage [J]. *Microsc Res Tech*,2002,58(1):3-13.
- [11] Brittberg M,Nilsson A,Lindahl A,et al. Rabbit articular cartilage defects treated with autologous cultured chondrocytes [J]. *Clin Orthop*,1996,(326):270-283.
- [12] Brittberg M,Lindahl A,Nilsson A,et al. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation [J]. *New Engl J Med*,1994,331(14):889-895.
- [13] Peterson L,Brittberg M,Kiviranta I,et al. Autologous chondrocyte transplantation. Biomechanics and long-term durability [J]. *Am J Sports Med*,2002,30(1):2-12.
- [14] 王跃,杨志明,解慧琪,等.人胎关节软骨细胞体外培养的生物学特性[J].中华实验外科杂志,2000,17(4):319-321.
Wang Y,Yang ZM,Xie HQ,et al. The biological characteristics of human fetal articular chondrocytes cultured *in vitro* [J]. *Zhonghua Shiyian Waike Zazhi(Chin J Exp Surg)*,2000,17(4):319-321.
- [15] Schaefer D,Martin I,Jundt G,et al. Tissue-engineered composites for the repair of large osteochondral defects[J]. *Arthritis Rheum*,2002,46(9):2524-2534.
- [16] Wakitani S,Goto T,Pineda SJ,et al. Mesenchymal cell-based repair of large,full-thickness defects of articular cartilage[J]. *J Bone Joint Surg (Am)*,1994,76(4):579-592.
- [17] Nevo Z,Robinson D,Horowitz S,et al. The manipulated mesenchymal stem cells in regenerated skeletal tissues [J]. *Cell Transplant*,1998,7(1):63-70.
- [18] Kramer J,Hegert C,Guan K,et al. Embryonic stem cell derived chondrogenic differentiation *in vitro*;activation by BMP-2 and BMP-4[J]. *Mech Dev*,2000,92(2):193-205.
- [19] Lohmann CH,Schwartz Z,Niederauer GC,et al. Pretreatment with platelet derived growth factor-BB modulates the ability of costochondral resting zone chondrocytes incorporated into PLA/PGA scaffolds to form new cartilage *in vivo* [J]. *Biomaterials*,2000,21(1):49-61.
- [20] Liu Y,Chen F,Liu W,et al. Repairing large porcine full-thickness defects of articular cartilage using autologous chondrocyte-engineered cartilage[J]. *Tissue Eng*,2002,8(4):709-721.
- [21] Wambach BA,Cheung H,Josephson GD,et al. Cartilage tissue engineering using thyroid chondrocyte on a type I collagen matrix[J]. *Laryngoscope*,2000,110(12):2008-2011.
- [22] Kuriwaka M,Ochi M,Uchio Y,et al. Optimum combination of monolayer and three-dimensional cultures for cartilage-like tissue engineering[J]. *Tissue Eng*,2003,9(1):41-49.
- [23] Ting V,Sims CD,Brecht LE,et al. *In vitro* prefabrication of human cartilage shapes using fibrin glue and human chondrocytes[J]. *Ann Plast Surg*,1998,40(4):413-420.
- [24] 傅捷,祝云利,吴海山,等.兔关节软骨细胞在纤维蛋白胶中体外培养[J].第二军医大学学报,2000,21(7):670-672.
Fu J,Zhu YL,Wu HS,et al. Culture of rabbit articular chondrocytes in fibrin glue *in vitro* [J]. *Di-er Junyi Daxue Xuebao (Acad J Sec Mil Med Univ)*,2000,21(7):670-672.
- [25] 李益中,葛宝丰,刘兴炎,等.骨形态形成蛋白复合纤维蛋白载体修复全厚关节软骨缺损的实验研究[J].中国矫形外科杂志,2001,8(4):366-368.
Li YZ,Ge BF,Liu XY,et al. The repair of osteochondral defects in rabbits using a composite of bone morphogenetic protein and fibrin sealant [J]. *Zhongguo Jiaoxing Waike Zazhi (Orthop J Chin)*,2001,8(4):366-368.
- [26] 马进峰,陈晓亮,王英振,等.软骨生长因子对兔软骨细胞作用的实验研究[J].中华外科杂志,2002,40(8):600-603.
Ma JF,Chen XL,Wang YZ,et al. Effects of cartilage-derived growth factor on cultured rabbits chondrocytes [J]. *Zhonghua Waike Zazhi(Chin J Surg)*,2002,40(8):600-603.
- [27] Doherty PJ,Zhang H,Manolopoulos V,et al. Adhesion of transplanted chondrocytes onto cartilage *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Rheumatol*,2000,27(7):1725-1731.
- [28] Brower-Toland BD,Saxer RA,Goodrich LR,et al. Direct adenovirus-mediated insulin-like growth factor I gene transfer enhances transplant chondrocyte function [J]. *Hum Gene Ther*,2001,12(2):117-129.
- [29] Madry H,Padera R,Seidel J,et al. Gene transfer of a human insulin-like growth factor I cDNA enhances tissue engineering of cartilage [J]. *Hum Gene Ther*,2002,13(13):1621-1630.
- [30] 郭晓东,杜靖远,刘启新,等.转化生长因子 β 1基因转染间充质干细胞对关节软骨的保护作用[J].中华老年医学杂志,2001,20(3):230.

【收稿日期】 2003-05-28

【修回日期】 2003-12-09

【本文编辑】 沈志宏