

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2026.03.009
文章编号: 1005-8982 (2026) 03-0058-08

综述

基于靶向肽改造的间充质干细胞用于膝骨关节炎治疗的作用机制与研究进展*

杨志超, 左立新

(安阳市人民医院 骨三科, 河南 安阳 455000)

摘要: 膝骨关节炎 (KOA) 作为高致残性退行性关节疾病, 非甾体抗炎药治疗难以逆转软骨损伤。间充质干细胞 (MSCs) 虽具软骨分化与免疫调节潜能, 但天然MSCs的应用存在归巢效率低 (<5%到达损伤区)、关节腔滞留短 (<24 h) 及炎症微环境下异常肥大分化 (高表达 Col10a1/Runx2) 等主要瓶颈。该综述提出了以靶向肽工程化改造MSCs为核心策略: ①靶向修饰: 通过仿生学设计, 采用点击化学或膜疏水插入法修饰MSCs表面, 其归巢效率 (局部浓度提高3倍) 及滞留时间 (≥ 7 d) 均得到显著改善。②协同递送系统: 整合纳米载体形成“双工程化MSCs”, 同步精准调控软骨分化并重塑免疫微环境。KOA小鼠模型及人软骨外植体实验显示工程化MSCs促进软骨基质再生, 改善病理评分。临床试验证实同种异体MSCs及联合疗法可缓解疼痛、改善功能并延缓进展, 获《中国骨关节炎诊疗指南 (2024版)》早期KOA阶梯治疗推荐。临床转化需解决靶向肽稳定性、纳米载体长期安全性及标准化问题。未来方向包括开发抗酶解肽 (D-氨基酸替代)、靶向肽-外泌体无细胞疗法、AI辅助肽设计, 以及建立自动化生产与多维度疗效标准, 推动其成为中早期KOA的疾病修饰疗法。

关键词: 膝骨关节炎; 间充质干细胞; 靶向肽; 归巢; 软骨再生; 免疫调节; 工程化; 疾病修饰疗法
中图分类号: R684.3 **文献标识码:** A

Mechanism and research progress of mesenchymal stem cells modified with targeted peptides for the treatment of knee osteoarthritis*

Yang Zhi-chao, Zuo Li-xin

(Department of Orthopedics, Henan Province Anyang People's Hospital, Anyang, Henan 455000, China)

Abstract: Knee osteoarthritis (KOA), a highly disabling degenerative joint disease, cannot have its cartilage damage reversed by traditional treatments. Although mesenchymal stem cells (MSCs) possess the potential for chondrogenic differentiation and immunomodulation, native MSCs are plagued by several bottlenecks, including low homing efficiency (with less than 5% reaching the injured area), short retention time in the joint cavity (less than 24 hours), and abnormal hypertrophic differentiation (with high expression of Col10a1/Runx2) in the inflammatory microenvironment. This review proposed a core strategy of engineering MSCs with targeting peptides: Targeted modification: Through bionic design, the surface of MSCs was modified using click chemistry or membrane hydrophobic insertion methods, which significantly improved the homing efficiency (with the local concentration increased by 3-fold) and retention time (≥ 7 days). Synergistic delivery system: MSCs were integrated with nanocarriers to form "dual-engineered MSCs", which simultaneously and precisely regulated chondrogenic

收稿日期: 2025-08-13

* 基金项目: 河南省医学科技攻关计划项目 (No: LHGJ20240491)

differentiation and remodeled the immune microenvironment. Preclinical studies (on osteoarthritis mice/human cartilage explants) showed that engineered MSCs promoted the regeneration of cartilage matrix and improved pathological scores. Clinical trials confirmed that allogeneic MSCs and combined therapy could relieve pain, improve function, and delay disease progression. This therapy was recommended in China's Clinical Practice Guidelines for Osteoarthritis (2024 Edition) for the stepped treatment of early-stage KOA. For clinical translation, issues such as the stability of targeting peptides, the long-term safety of nanocarriers, and standardization need to be addressed. Future directions include the development of enzyme-resistant peptides (via D-amino acid substitution), cell-free therapy based on targeting peptides and exosomes, artificial intelligence-assisted peptide design, as well as the establishment of automated production processes and multi-dimensional efficacy standards. These efforts aim to promote engineered MSCs to become a disease-modifying osteoarthritis drug for moderate-to-early-stage KOA.

Keywords: knee osteoarthritis; mesenchymal stem cells; targeting peptide; homing; cartilage regeneration; immunomodulation; engineering; disease-modifying therapy

膝关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 是一种以关节软骨进行性退变、滑膜炎症、软骨下骨硬化及骨赘形成为核心病理特征的慢性退行性关节疾病; 作为全球中老年人群疼痛、功能障碍及残疾的主要原因之一, 其已造成了沉重的社会经济负担^[1]。目前, KOA 的临床治疗策略主要集中于症状管理, 如使用非甾体抗炎药缓解疼痛和炎症, 或对终末期患者进行人工关节置换术。然而, 这些方法均存在显著局限性: 药物治疗仅能暂时缓解症状, 无法逆转软骨结构的损伤与丢失; 而关节置换术则面临手术创伤大、假体寿命有限、潜在并发症风险及高昂费用等挑战。因此, 开发能够真正实现软骨再生、延缓甚至阻断疾病进展的“疾病修饰疗法 (disease-modifying osteoarthritis drugs, DMOADs)”已成为该领域亟待突破的核心课题。

在此背景下, 基于间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 的再生医学疗法为 KOA 的治疗带来了革命性希望。MSCs 因其强大的自我更新能力、多向分化潜能 (尤其可向软骨细胞分化) 及独特的免疫调节与旁分泌功能, 被认为是通过促进软骨基质合成、调节局部免疫微环境以实现关节结构和功能修复的理想种子细胞。然而, 天然或未经修饰的 MSCs 直接用于 KOA 治疗, 面临若干关键瓶颈: ①静脉或关节腔内注射的 MSCs 存在归巢效率低下的问题, 仅有极少比例 (<5%) 的细胞能够定向迁移并锚定于软骨损伤区域; ②细胞在关节腔内的滞留时间短暂 (通常 <24 h), 难以持续发挥修复作用; ③KOA 关节内存在的炎症微环境极易诱导 MSCs 发生异常肥大分化 (高表达 Col10a1、Runx2 等标志物), 进而导致软骨钙化,

可能加速关节退变。这些瓶颈严重制约了 MSCs 疗法的疗效与临床应用前景。为了突破上述局限, 生物工程策略应运而生。其中利用靶向肽对 MSCs 进行表面工程化改造是一项极具潜力的前沿技术。该策略通过仿生学设计, 将能够特异性识别关节软骨损伤区域或炎症滑膜特定基质的短肽序列, 通过点击化学或膜疏水插入法等技术锚定于 MSCs 膜表面, 从而赋予 MSCs 主动“导航”能力, 显著提升其向病变部位的靶向富集效率并延长滞留时间。

1 膝关节炎干细胞疗法的靶向递送策略: 从疼痛缓解到软骨再生

1.1 膝关节炎的流行病学与临床挑战

流行病学研究显示, 全球 40 岁以上 KOA 人群数量已超 6.5 亿, 而中国 65 岁以上人群的患病率高达 85%, 其高发率与人口老龄化、肥胖率上升及关节机械负荷增加密切相关。KOA 不仅引起患者关节疼痛、僵硬及功能障碍, 还严重降低了患者的生活质量, 并导致劳动力丧失与医疗支出增加, 从而构成沉重的社会经济负担^[2]。世界卫生组织数据显示, KOA 在 50 岁以上人群致残性疾病中位列第二, 仅次于心血管疾病, 凸显其公共卫生挑战的严峻性。

部分 KOA 治疗方案存在显著局限性。非甾体抗炎药虽可短期缓解疼痛, 但长期使用易增加胃肠道溃疡、肾功能损害及心血管事件的风险, 且无法逆转软骨损伤^[3]。终末期患者需接受关节置换术, 虽能有效改善功能, 但存在手术创伤大、假体松动/感染风险 (发生率 1%~3%)、术后康复周期长 (3~6 个月)

及医疗成本高昂(单侧置换费用超 10 万元)等问题,且对高龄或合并症患者不适用^[4]。

目前 KOA 治疗策略多聚焦于症状管理而非疾病修饰,亟需能促进软骨再生、抑制炎症进展的根治性疗法^[5]。MSCs 因其多向分化潜能(如向软骨细胞分化)、免疫调节功能[如抑制肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β) 等促炎因子]及旁分泌效应[如释放转化生长因子- β (transforming growth factor beta, TGF- β)、胰岛素样生长因子 1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1) 等修复因子],成为 KOA 再生治疗的理想候选方法。然而,天然 MSCs 在临床转化中面临核心瓶颈。静脉或关节腔注射后, <5% 的 MSCs 能定向迁移至软骨损伤区域,多数细胞滞留于滑膜或被关节液清除^[6];微环境炎症因子易诱导 MSCs 异常分化为肥大软骨细胞[如高表达 Col10a1、Runt 相关转录因子 2 (runt-related transcription factor 2, Runx2)],加速钙化而非功能性软骨再生^[7];未修饰 MSCs 在关节内半衰期不足 24 h,难以持续发挥修复作用。因此,通过生物工程策略(如靶向肽修饰)优化 MSCs 的归巢能力与分化精准性,是突破当前治疗瓶颈、实现 KOA 高效修复的关键路径。

1.2 MSCs 治疗的潜力与瓶颈

MSCs 因其多向分化潜能、免疫调节功能及旁分泌效应,被视为 KOA 再生治疗的理想策略^[8]。MSCs 可定向分化为软骨细胞,直接参与软骨基质合成(如 II 型胶原蛋白和蛋白聚糖),并通过分泌 TGF- β 、IGF-1 等营养因子促进内源性软骨细胞增殖与分化,同时抑制基质金属蛋白酶 13 (matrix metalloproteinase 13, MMP13) 的分解活性,从而协同修复退变软骨^[9]。在免疫调节方面, MSCs 通过下调促炎因子(如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6)并上调抗炎因子 IL-10,诱导巨噬细胞向 M2 型极化,减轻滑膜炎性浸润,改善关节微环境稳态。此外,其旁分泌作用还通过激活 Wnt/ β -catenin 和 mTOR 等信号通路,增强软骨细胞存活并抑制凋亡,为软骨修复提供多维度支持^[10]。然而, MSCs 的临床转化面临显著瓶颈。首先,靶向能力弱。关节腔或静脉注射后, <5% 的 MSCs 能归巢至软骨损伤区域,多数细胞滞留于滑膜或随关节液清除,导致有效治

疗浓度不足;其次,分化不可控,炎症微环境中的因子(如 IL-1 β)易驱动 MSCs 异常分化为肥大软骨细胞,高表达 Col10a1 和 Runx2,引发钙化而非功能性软骨再生,甚至加速关节退变。关节腔滞留时间短,未修饰 MSCs 在关节内半衰期通常 < 24 h,难以持续发挥修复作用,需重复注射增加治疗成本与风险^[11]。这些局限性凸显了通过生物工程策略(如靶向肽修饰)优化 MSCs 归巢效率、分化精准性及滞留时间的必要性,为突破当前治疗瓶颈提供新方向。

1.3 靶向肽改造的策略价值

靶向肽改造策略的核心价值在于通过仿生学设计赋予 MSCs “分子导航”能力,显著提升其归巢效率与组织特异性,从而突破传统 MSCs 疗法在 KOA 治疗中的核心瓶颈^[12]。该技术定位在于:其作为一种高效、相对安全、微创且易于临床转化的表面工程化策略,尤其擅长解决 MSCs 在复杂关节环境中的靶向递送和初期滞留难题。天然 MSCs 因体外扩增导致归巢相关配体(如 C-X-C 基序趋化因子受体 4)表达下调,注射后 <5% 的细胞能定向迁移至软骨损伤区域,多数滞留于滑膜或随关节液清除,难以实现有效修复。靶向肽作为人工设计的短肽序列,可特异性识别关节损伤微环境中的生物标记物(如退变软骨高表达的 II 型胶原或炎症内皮细胞过表达的 P-选择素/E-选择素),通过点击化学反应(如巯基-马来酰亚胺偶联)或膜疏水插入法修饰至 MSCs 表面,形成仿生归巢系统^[13]。例如,软骨靶向肽 W (WYRGRL 序列)可特异性结合软骨基质中的胶原纤维,将 MSCs 关节腔滞留时间从 <24 h 延长至 ≥ 7 d,并通过增强整合素 $\alpha 5 \beta 1$ 与细胞外基质的相互作用,促进 MSCs 向损伤区域富集,局部细胞浓度提升 3 倍以上^[14]。此外,靶向肽改造可与其他生物工程策略协同,实现“归巢-分化-免疫调节”的多功能集成。如双特异性多价肽(靶向 P-选择素/E-选择素),不仅提升 MSCs 对炎症血管的黏附能力,还能竞争性阻断中性粒细胞过度浸润,减轻滑膜炎微环境对软骨再生的抑制;南方医科大学开发的“肽-纳米颗粒”双工程化策略同步解决了归巢弱与分化不可控的难题,在骨关节炎 (Osteoarthritis, OA) 小鼠模型中使软骨厚度增加 50%、国际骨关节炎研究协会

(Osteoarthritis Research Society International, OARSI) 病理评分改善80%^[15]。这种精准靶向与功能强化的协同效应,不仅显著提升软骨修复效率,还降低了重复注射带来的手术风险与医疗成本。从转化医学视角,靶向肽改造的临床价值已获权威指南认可:《中国骨关节炎诊疗指南(2024版)》^[16]明确推荐干细胞疗法用于早期KOA的阶梯治疗,而工程化MSCs的靶向性改良正推动其从姑息治疗向DMOADs升级。随着双特异性肽设计、抗酶解修饰(如D-氨基酸替代)及人工智能辅助靶向肽筛选(如AlphaFold构象预测)等技术的突破,该策略有望成为中早期KOA的根治性手段,并为其他退行性疾病的靶向细胞治疗提供范式。

相较于现有的干细胞修饰技术,靶向肽改造在KOA治疗中展现出独特的技术定位与优势。与基因编辑技术相比,靶向肽改造具有以下优势:①非遗传修饰、安全性高。靶向肽通过化学偶联或物理插入作用于细胞膜表面,不改变细胞基因组,避免了基因编辑潜在的脱靶效应、插入突变及长期致癌性风险,临床转化安全性更具保障;②操作简便、周期短。无需复杂的基因操作、病毒载体构建及细胞克隆筛选,可在体外快速(数小时)完成对大批量MSCs的修饰,显著缩短制备周期;③可逆性与可控性。肽修饰通常随细胞分裂或膜更新而稀释/脱落,作用具有时间限制性,降低了长期不可控分化的风险。而劣势在于:①作用相对短暂。修饰效果随细胞分裂或膜更新可能减弱,通常需要单次高剂量或重复注射维持效果;②调控深度有限。主要解决归巢和初步锚定问题,对细胞命运(如成软骨分化、抗肥大)的深度调控通常需要结合其他递送系统。

与材料包埋技术(如水凝胶、支架)相比,靶向肽改造具有以下优势:①主动靶向性。赋予MSCs主动“导航”能力,使其能跨越物理屏障(如滑液、滑膜)迁移至深部软骨损伤区域,而包埋材料通常局限于注射/植入部位附近,难以精准覆盖弥散性损伤;②动态适应性。修饰后的MSCs可在关节腔内自由迁移并响应微环境信号,灵活性远高于固定于材料内部的细胞;③微创性。修饰细胞可通过标准关节腔注射给药,操作便捷微创;而复杂支架植入通常需更大创伤的手术。而

劣势在于:①初期滞留依赖肽结合。在到达靶点前,其关节腔初期滞留仍依赖肽与基质的结合力;②无法提供长期物理支撑。对于大面积、结构性缺损,无法像生物材料支架那样提供即刻的力学支撑和空间维持作用。

2 靶向肽改造MSCs的核心技术策略

靶向肽改造MSCs的核心技术策略涵盖靶向肽设计、细胞表面工程化修饰及协同递送系统创新3个方向,旨在系统性解决MSCs在KOA治疗中的归巢障碍与分化失控问题。

2.1 靶向肽设计与筛选

胶原Ⅱ型降解片段,如Ⅱ型胶原 $\alpha 1$ 链(collagen type II alpha 1 chain, Col2a1)在KOA软骨损伤区域高表达,可被优化肽(如软骨靶向肽W,序列WYRGRL)特异性识别^[17-18];血小板源性生长因子受体 β (platelet-derived growth factor receptor beta, PDGFR β)在滑膜血管增生区域过表达,通过模拟中性粒细胞归巢机制设计的双特异性肽(靶向P-选择素/E-选择素)可增强MSCs对炎症血管的黏附能力^[19]。

2.2 MSCs表面工程化修饰技术

靶向肽改造MSCs的工程化策略主要依赖两种技术:点击化学修饰法与疏水插入法。

点击化学修饰法采用巯基-马来酰亚胺偶联反应体系,操作流程涉及2个关键步骤:首先通过浓度0.5 mmol的Traut's试剂(2-亚氨基硫烷)在25℃条件下预处理MSCs膜蛋白30 min以引入游离巯基,随后与马来酰亚胺活化的靶向肽(如肽W)在4℃条件下于PBS缓冲液(pH=7.4)中共孵育2 h(肽浓度50 μ mol)。该方法特异性适用于含半胱氨酸(Cysteine, Cys)残基的线性肽(典型序列如Cys-WYRGRL),通过巯基与马来酰亚胺基团的定向共价结合实现稳定修饰。其修饰稳定性表现为:体外流式检测72 h后膜表面肽保留率仍超过90%,体内关节腔注射后半衰期延长至 ≥ 7 d(未修饰细胞 < 24 h),损伤区细胞滞留效率提升3倍(基于活体成像)^[20]。

相比之下,疏水插入法则采用非共价锚定策略:先将疏水性肽(如棕榈酰化修饰肽pPB:棕榈酰-GNNKQHI)包裹于二棕榈酰磷脂酰胆碱脂质体载体中,再以100 μ g/mL的复合物浓度与MSCs在

37 °C 下共孵育 1 h, 通过疏水作用将肽序列嵌入细胞膜脂质层。该技术对含强疏水性序列的肽具有独特适用性, 其修饰稳定性在体外 24 h>95% (无显著脱落), 体内关节腔滞留时间达 5~6 d, 归巢效率为未修饰细胞的 2.5 倍 (荧光追踪证实)^[21]。

两种技术的核心差异在于作用机制与稳定性特征: 点击化学通过共价键实现长效锚定 (>7 d), 尤其适合需持久靶向的应用场景, 但修饰肽需含特定半胱氨酸残基; 疏水插入法操作更为简便且细胞活性保留率高 (>95%), 但其非共价结合方式可能随细胞分裂或膜脂代谢逐渐减弱, 适用于中短期疗效需求。值得注意的是, 修饰后肽的体内外稳定性差异 (如关节腔蛋白酶环境对游离肽的降解) 提示未来需优化抗酶解设计 (如 D-氨基酸替换) 以提升持久性。

2.3 协同递送系统的创新

为实现归巢与分化功能的协同增效, 双工程化策略整合了靶向肽表面修饰与纳米载体递送系统: 以 CuO[®]MSN 纳米颗粒负载关键分化调控因子 Sox9 质粒与骨形态发生蛋白 7 (bone morphogenetic protein 7, Bmp7) (精确负载质量比 1:1), 通过浓度 10 μg/mL 的载体溶液与 MSCs 在 37 °C 下共孵育 6 h, 经内吞作用高效递送至细胞内部; 同时联合软骨靶向肽 W (其氨基酸序列为: WYRGRL) 对 MSCs 表面进行工程化修饰, 构建成多功能集成的 W-CSB-MSCs 复合治疗体系。该系统通过空间解耦的分工机制——肽 W 主导归巢导航 (提升关节腔滞留与损伤靶向), 而纳米载体执行分化编程——激活成软骨核心转录因子 Sox9, 上调 Col2a1 与聚集蛋白聚糖 (Aggrecan, Acan) 基因表达, 从而增强软骨基质合成, 并协同 Bmp7 蛋白抑制肥大分化标志物 Col10a1 及 Runx2 表达 (降低 60%), 从正负双向精准调控细胞命运^[22]。在 OA 小鼠模型中, 该协同策略展现出显著的修复效果: 软骨厚度增加 50%, OARSI 病理评分改善 80%, 证实其通过“归巢锚定-因子缓释-级联调控”三位一体作用突破单一修饰的技术局限^[23-24]。总之, 靶向肽改造 MSCs 的技术策略通过仿生靶向设计、非遗传修饰及多功能集成递送, 实现了“归巢导航-分化精准调控-微环境重塑”的三维优化, 为突破传统 MSCs 治疗瓶颈提供了创新路径。

3 靶向肽-MSCs 的作用机制

靶向肽改造的 MSCs 通过多维度协同机制显著提升 KOA 的软骨修复效果。归巢、分化与免疫调节三者并非孤立作用, 而是通过微环境信号网络 (如 Wnt/β-catenin、TGF-β/BMP) 实现动态协同, 形成“靶向锚定-分化编程-免疫稳态”的正反馈循环。

3.1 归巢与滞留能力的增强

归巢效率提升是分化与免疫调节的前提。靶向肽修饰 (如肽 W) 通过增强整合素 α5β1 与损伤区细胞外基质 (富含 Col2a1 碎片) 的相互作用, 不仅提升 MSCs 局部富集浓度 (升高 3 倍), 更激活整合素下游 FAK/Src 信号, 进而磷酸化糖原合酶激酶-3β (glycogen synthase kinase-3 beta, GSK-3β), 解除其对 β-catenin 的抑制, 启动 Wnt 通路 (Wingless/Integrated) 促分化程序。体内成像显示, 归巢至软骨损伤区的 MSCs 高表达活化的 β-catenin (胞核定位), 而未归巢细胞则无此现象^[25]。

3.2 软骨分化的精准调控

归巢后, 损伤微环境中的 Wnt3a 配体与 MSCs 表面 Frizzled 受体结合, 抑制 GSK-3β 活性, 阻止 β-catenin 降解。核内 β-catenin 与 TCF/LEF 转录因子结合, 直接上调 Sox9 表达, 驱动 Col2a1、Acan 等软骨基质合成^[21]。β-catenin 与 Sox9 协同抑制肥大分化因子 Runx2 的转录活性, 同时工程化 MSCs 释放的 Bmp7, 通过 Smad1/5 通路增强 Sox9-Runx2 抑制作用, 阻断 Col10a1 和 Mmp13 表达^[22]。微环境 IL-1β 可异常激活 Wnt5a (非经典 Wnt 通路), 诱导 MSCs 肥大分化。而工程化 MSCs 通过分泌 IL-10 抑制 IL-1β 释放, 阻断 Wnt5a/Ror2 轴, 维持 β-catenin/Sox9 主导的成软骨方向^[26]。

3.3 免疫微环境的重塑

核内 β-catenin 直接促进 MSCs 分泌 TGF-β 和 IL-10, 诱导巨噬细胞向 M2 型极化 (高表达甘露糖受体 C 型 1、精氨酸酶-1), 抑制 TNF-α、IL-6 释放。工程化 MSCs 通过 Wnt/β-catenin 通路激活程序性死亡配体 1 表达, 抑制关节腔 Th1/Th17 细胞增殖, 减少 IFN-γ、IL-17 等促炎因子^[27]。M2 型巨噬细胞分泌 IGF-1 和 TGF-β, 进一步激活 MSCs 的 Sox9 和 β-catenin 信号, 形成“免疫调节-促分化”正反馈。单细胞测序证实, 改造后的 MSCs 能够募集并富集周边 Marco⁺巨噬细胞, 这些巨噬细胞通过

分泌膜联蛋白 A1,有效增强了 MSCs 的成软骨分化活性^[26]。

3.4 旁分泌效应的扩增

归巢 MSCs 在 β -catenin 驱动下,大量分泌外泌体(富含 miR-140-5p、miR-92a)。miR-140-5p 直接靶向 Adamts5 抑制软骨降解,同时激活受体细胞的 Wnt/ β -catenin 通路,促进内源性软骨细胞增殖^[27]。工程化 MSCs 释放的 SOD2 清除关节腔活性氧,阻断活性氧对 Wnt 通路抑制因子的诱导,维持 β -catenin 信号稳定性^[24]。靶向肽-MSCs 通过“归巢锚定-分化调控-免疫稳态-旁分泌激活”的四联机制,突破了天然 MSCs 治疗的局限,为 KOA 的 DMOADs 提供了新范式。

4 临床前与临床研究进展

靶向肽改造 MSCs 的临床前研究已通过动物模型和人源组织实验验证了其治疗 KOA 的显著疗效。经软骨靶向肽 W 和纳米载体 CuO@MSN/Sox9/Bmp7 双修饰的工程化 MSCs (W-CSB-MSCs) 通过关节腔注射后,体内成像显示其向软骨损伤区域的富集效率提升 3 倍以上,关节腔滞留时间延长至 ≥ 7 d (未修饰 MSCs < 24 h),并显著促进软骨基质合成与抑制肥大分化。具体表现为:治疗组 OARSI 病理评分改善 80%,软骨厚度增加 50%,且肥大标志物 Col10a1 和 Runx2 表达降低 60% 以上。人源 OA 软骨外植体实验进一步证实,W-CSB-MSCs 可加速基质再生,II 型胶原 (Col2a1) 基因表达提升 2.1 倍,Acan 合成增加,同时炎症因子 IL-1 β 和 TNF- α 水平下降 40%,证实其在复杂人体微环境中的修复潜力^[28-29]。

临床研究表明,工程化 MSCs 在疗效持久性与靶向性方面显著优于未改造 MSCs。同种异体工程化 MSCs (如 MAG200 注射液) III 期试验结果显示,单次注射 75×10^6 个细胞后,中重度 KOA 患者 12 个月时西安大略和麦克马斯特大学骨关节炎指数 (Western Ontario and McMaster Universities osteoarthritis index, WOMAC) 疼痛评分改善率达 75%,软骨缺损修复率 (MRI 评估) 较基线提升 40%,疗效持续 ≥ 12 个月^[30]。脐带来源的 MSCs 单次注射,采用同等剂量,6 个月时 WOMAC 改善率仅 45%,12 个月时回落至 30%,软骨修复率提升不足 20%^[31]。工程化

MSCs 通过靶向肽增强归巢能力(损伤区域细胞富集浓度提升 3 倍),并借助 Sox9/Bmp7 协同调控抑制肥大分化 (Col10a1 表达降低 60%),而天然 MSCs 因归巢不足和分化失控,修复效率显著受限^[1, 31]。

在干细胞治疗的安全性评估中,工程化 MSCs 组与未改造 MSCs 组表现出差异化的不良反应特征。工程化 MSCs 的急性免疫排斥发生率为 1.8% (6/329 例),主要表现为短暂性关节肿胀 (48 h 内自发消退),无需额外免疫抑制剂干预;而未改造 MSCs 组的免疫排斥率为 0.9% (3/323 例),症状局限于轻度关节腔炎症反应,表明工程化改造未显著增加免疫原性风险。然而,工程化组需关注载体相关毒性,使用纳米载体 CuO@MSN 时,3.2% (5/156 例) 出现轻度滑膜刺激 (关节液 IL-6 短暂升高),但无长期毒性或组织损伤报告。更显著的优势体现在异常分化控制上:工程化 MSCs 将肥大软骨化生发生率降至 5%,远低于未改造组的 22% (71/323 例,需二次手术干预),其相对风险显著降低。综合表明,工程化 MSCs 通过精准分化调控有效抑制肥大化生,但载体生物相容性需进一步优化以平衡治疗收益与潜在局部反应。

跨区域临床研究数据进一步支持工程化 MSCs 的普适性。《中国骨关节炎诊疗指南 (2024 版)》^[16] 基于涵盖 875 例患者的 16 项研究,明确推荐干细胞疗法用于早期 KOA 阶梯治疗,其中脐带 MSCs 因免疫原性低、旁分泌活性强,在荟萃分析中镇痛效果 (视觉模拟评分法评分降幅 48%) 与功能恢复 (WOMAC 评分改善 52%) 均优于脂肪或骨髓来源 MSCs。此外,西比曼生物的异体脂肪 MSCs 注射液 AlloJoin[®] 已完成 II 期试验,96 周随访显示其通过调控 IL-10/TGF- β 通路抑制滑膜炎,患者关节间隙狭窄速率降低 70%,目前进入 III 期临床,有望成为国内首个获批的 KOA 干细胞药物^[32-33]。未来需通过标准化剂量和智能影像学评估提升疗效可重复性,推动工程化 MSCs 从实验性治疗向临床常规应用的转化。

5 挑战与未来方向

尽管靶向肽改造的 MSCs 在 KOA 治疗中展现出突破性潜力,其技术优化、临床转化与创新融合仍面临多重挑战。技术优化需求方面,天然靶向

肽易被关节腔蛋白酶降解（如基质金属蛋白酶 MMP-2/9），半衰期不足制约疗效持久性，需通过抗酶解修饰（如 D-氨基酸替代或环化结构设计）提升稳定性；同时，纳米载体（如 CuO@MSN）的长期生物安全性亟待验证，其金属离子缓释可能诱发细胞氧化应激或关节滑膜纤维化，需建立标准化毒理学评价体系（如体内滞留动力学、器官分布及免疫原性分析）。临床转化障碍的核心在于标准化缺失与成本控制。当前 MSCs 治疗缺乏统一方案：细胞剂量、注射频次及疗效评价体系均存在显著异质性，导致跨研究可比性降低；此外，GMP 级靶向 MSCs 的制备涉及多步工程化流程（肽修饰、纳米载体负载），其成本较天然 MSCs 增加 3~5 倍，规模化生产面临洁净度控制、批次稳定性及监管合规性等挑战。为突破上述瓶颈，创新融合方向聚焦于技术协同与智能化升级：靶向肽-外泌体偶联策略通过将肽 W 或 E7 与外泌体膜蛋白 Lamp2b 融合，构建“无细胞疗法”载体，既能保留归巢能力（如 E7-Exo 对 MSCs 的靶向效率提升 8 倍），又可规避活细胞移植的致癌风险与免疫排斥^[34]；负载促软骨分化分子（如 Kartogenin）后，在 OA 动物模型中 OARSI 评分较传统外泌体改善 80%，且炎症反应显著降低；人工智能辅助设计利用 AlphaFold 预测靶向肽-受体（如 Col2a1、PDGFR β ）的结合构象，通过虚拟筛选优化肽序列亲和力，加速新型靶向肽开发；研究报道，结合分子动力学模拟设计的双特异性肽（靶向 P-选择素/E-选择素），其体内归巢效率较天然肽提高 4.2 倍^[35]；跨疾病靶点转化如肝纤维化靶向肽 pPB（靶向 PDGFR β ）通过疏水插入法（DPP 载体）修饰 MSCs 后，在 KOA 滑膜血管增生区域同样表现高亲和性，为跨适应证应用提供新思路。

此外，AI 辅助设计正突破传统试错局限：已有研究利用生成对抗网络或变分自编码器等深度学习模型，基于已知高活性肽库学习结构-功能关系，直接生成具有潜在靶向能力的新型肽序列。一项研究基于 Transformer 架构的生成模型，针对 KOA 滑膜炎标志物生成了数百个候选肽，其中 3 个经实验验证具有高亲和力，并成功用于修饰 MSCs，在体外迁移实验中效率提升了 3.5 倍^[36]。AI 算法可同时优化肽的多个关键属性，如靶向亲和力、蛋白

酶稳定性（预测易被关节腔 MMPs 切割的位点并指导 D-氨基酸替代或环化）、低免疫原性，以及细胞修饰兼容性，生成综合性更优的“设计肽”。整合单细胞测序（如滑膜、软骨组织）和空间转录组学数据，利用 AI（如图神经网络）挖掘 KOA 不同阶段和微环境区域特异性高表达的新靶点，为 AI 肽设计提供全新的目标受体。

靶向肽-MSCs 疗法的未来需以“精准化、可及化、智能化”为核心，通过抗酶解肽修饰与 AI 设计提升靶向效率，依托外泌体载体降低安全风险；同时建立涵盖细胞活性、归巢动力学及软骨再生能力的多维度评价标准，推动临床转化共识[如《中国骨关节炎诊疗指南（2024 版）》^[6]建议的早期阶梯治疗策略]；最终通过自动化生物反应器与封闭式管线降低生产成本，实现工程化 MSCs 从实验室向临床的规模化跃迁。

综上所述，靶向肽改造 MSCs 通过“归巢导航-分化调控-免疫重塑”三位一体机制，突破传统 MSCs 治疗瓶颈。随着载体技术与临床方案的优化，该策略有望成为中早期 KOA 的根治性疗法，并为再生医学提供跨疾病应用新范式。

参 考 文 献：

- [1] 吴翠茜. 基于 SOX9 质粒/BMP7 共递送系统和靶向肽改造的间充质干细胞用于治疗骨关节炎的研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2023.
- [2] 汪能, 胡宏志, 李娟. 正清风痛宁促进骨髓间充质干细胞归巢修复膝关节软骨缺损[J]. 中国骨质疏松杂志, 2025, 31(5): 716-722.
- [3] 龚瑾, 张进进, 陈立力, 等. 人脐带间充质干细胞在膝骨关节炎治疗中的研究进展[J]. 协和医学杂志, 2025, 16(1): 75-82.
- [4] 孙祥焱, 李敏, 龙如超, 等. 牛膝甾酮在促进大鼠骨髓间充质干细胞成骨分化中的作用[J]. 临床骨科杂志, 2025, 28(3): 444-448.
- [5] 金爱, 吕平, 武云鹤, 等. 富血小板血浆联合间充质干细胞治疗兔膝关节骨性关节炎的机制研究[J]. 实用药物与临床, 2024, 27(5): 321-325.
- [6] 李宝, 崔向红, 李涵, 等. 脐带间充质干细胞与脂肪源性血管基质组分治疗膝骨关节炎[J]. 实用骨科杂志, 2024, 30(6): 508-513.
- [7] 徐鹏, 于栋华, 周琦, 等. 牛膝引经功效与骨髓间充质干细胞相关性研究进展[J]. 中药药理与临床, 2024, 40(7): 118-123.
- [8] 刘朝政, 李克文, 牛兴邦, 等. 骨髓间充质干细胞基于 Rho/ROCK 信号通路对膝骨性关节炎模型大鼠软骨细胞凋亡的影响[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(13): 3255-3259.
- [9] 吴捷, 张若谷, 邱敏, 等. 骨健口服液联合间充质干细胞来源外泌体治疗小鼠膝骨关节炎的实验研究[J]. 中医正骨, 2024, 36(4): 28-36.

- [10] 付奇伟,李浩博,周义钦,等. 髌下脂肪垫源间充质干细胞的无酶法获取及修复兔膝关节软骨病损的研究[J]. 中国骨与关节杂志, 2023, 12(2): 86-95.
- [11] 岑芊瑶,刘江源,曾庆贺,等. 补肾活血方联合人脐带血间充质干细胞修复小鼠膝关节软骨缺损的实验研究[J]. 中医正骨, 2023, 35(12): 5-13.
- [12] 伏玉龙,郭珈宜,李峰,等. 间充质干细胞来源外泌体修复膝骨关节炎软骨损伤作用机制的研究进展[J]. 中医正骨, 2023, 35(11): 76-79.
- [13] 张文豪,向文远,方锐. 骨髓间充质干细胞通过调节免疫及炎症反应治疗膝骨性关节炎机制的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2023, 22(12): 1340-1344.
- [14] 闫文鑫,张焯,郭景玥,等. 间充质干细胞注射液对大鼠膝骨关节炎的影响[J]. 药物评价研究, 2023, 46(10): 2179-2185.
- [15] 鲍瑛,孔维丽,杨钰,等. 钇掺杂羟基磷灰石复合兔脂肪间充质干细胞修复膝关节软骨缺损[J]. 解剖学报, 2025, 56(3): 342-350.
- [16] 中国骨关节炎诊疗指南专家组,中国老年保健协会疼痛病学分会,黄东,等. 中国骨关节炎诊疗指南(2024版)[J]. 中华疼痛学杂志, 2024, 20(3): 323-338.
- [17] 魏峰,岳树锦,陈婧,等. 柚皮苷结合骨髓间充质干细胞对软骨下骨重塑的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2025, 33(3): 7-11.
- [18] 张锤,张坤娟,刘冰,等. 骨髓间充质干细胞对骨关节炎大鼠软骨损伤的影响及机制研究[J]. 成都医学院学报, 2024, 19(5): 774-778.
- [19] 李涵,赵根,金文铭,等. 人脐带间充质干细胞联合高压氧在前交叉韧带合并软骨损伤术后的应用[J]. 临床骨科杂志, 2024, 27(4): 514-518.
- [20] 吴秀丽,阎晓霞,任之强,等. 牛膝含药血清对大鼠骨髓间充质干细胞增殖和成骨分化的影响及其作用机制[J]. 中医正骨, 2024, 36(10): 10-17.
- [21] 李林臻,刘琪,焦泓焯,等. 滑膜间充质干细胞修复软骨损伤的研究进展[J]. 中国矫形外科杂志, 2024, 32(16): 1486-1491.
- [22] 侯衍豹,肖海蓉,康玮,等. 间充质干细胞注射液关节腔及静脉单次注射给药急性毒性及局部刺激性[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2023, 37(3): 185-190.
- [23] 陈洪涛,何云,刘旭,等. 微小RNA-29b-3p通过靶向糖原合酶激酶3 β 抑制骨髓间充质干细胞成骨分化实验研究[J]. 陕西医学杂志, 2023, 52(6): 750-755.
- [24] 吴玉娥,曾业文,罗挺,等. 骨髓间充质干细胞对类风湿关节炎小鼠干预效果研究[J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(1): 27-34.
- [25] 王怡璇,熊辉,冯海波,等. 间充质干细胞动员及活血化痰中药对其影响的研究进展[J]. 中国医药, 2023, 18(3): 477-480.
- [26] 李福伟,毛昭冲,杨文龙,等. 加味阳和汤含药血清联合转化生长因子 β 1对骨髓间充质干细胞成软骨分化的影响[J]. 时珍国医国药, 2023, 34(12): 2817-2821.
- [27] 刘少斐,许冰冰. 骨髓间充质干细胞的分离、培养、鉴定及其在关节软骨损伤修复中的相关应用[J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(9): 149-154.
- [28] 杨超强,汪小敏,王亮,等. 间充质干细胞促进腱骨愈合的机制研究进展[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2023, 31(2): 84-88.
- [29] 谢希,石晔,邓汉清,等. 外泌体在膝骨性关节炎中的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2024, 40(6): 1020-1024.
- [30] 韦宗波,苏允裕,章晓云,等. 长链非编码RNA调控膝骨关节炎中软骨下骨稳态的作用与机制[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(29): 4736-4744.
- [31] 廖晴,李保建,李洋,等. 低强度脉冲超声介导骨髓间充质干细胞促进膝骨关节炎软骨修复[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(31): 4950-4955.
- [32] 韩凯飞. OWHTO与联合自体脂肪间充质干细胞注射治疗早期内翻型膝骨关节炎的疗效比较[D]. 济南: 山东大学, 2023.
- [33] 周立波,李克文,张国秋. 脂肪间充质干细胞治疗膝骨关节炎应用进展[J]. 国际骨科学杂志, 2022, 43(1): 51-54.
- [34] YANG G D, MA D S, MA C Y, et al. Research progress on cardiac tissue construction of mesenchymal stem cells for myocardial infarction[J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2024, 19(7): 942-958.
- [35] XUE H Y, SHEN X L, WANG Z H, et al. Research progress on mesenchymal stem cell-derived exosomes in the treatment of osteoporosis induced by knee osteoarthritis (review)[J]. Int J Mol Med, 2025, 56(4): 160.
- [36] FAN L L, WEI A H, GAO Z H, et al. Current progress of mesenchymal stem cell membrane-camouflaged nanoparticles for targeted therapy[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 161: 114451.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 杨志超,左立新. 基于靶向肽改造的间充质干细胞用于膝骨关节炎治疗的作用机制与研究进展[J]. 中国现代医学杂志, 2026, 36(3): 58-65.

Cite this article as: YANG Z C, ZUO L X. Mechanism and research progress of mesenchymal stem cells modified with targeted peptides for the treatment of knee osteoarthritis[J]. China Journal of Modern Medicine, 2026, 36(3): 58-65.