

## 富血小板血浆治疗膝骨关节炎的研究进展\*

赵露婷,王剑雄,方其林 综述,胥方元<sup>△</sup> 审校

(西南医科大学附属医院康复医学科,四川泸州 646000)

**[摘要]** 膝骨关节炎(KOA)是中老年人常见的退行性骨关节病,疾病引起的关节疼痛、肿胀、活动受限严重影响患者的日常生活能力,目前尚无特效的临床治疗方案。富血小板血浆(PRP)是外周血多次离心后的产物,近年来逐渐应用于 KOA 的治疗,众多研究者发现关节内注射 PRP 可有效改善 KOA 患者的临床症状,且疗效优于透明质酸钠,同时操作简便、经济,是研究的热点。本文对 PRP 治疗 KOA 的基础、动物及临床研究进展及存在的问题进行综述。

**[关键词]** 富血小板血浆;骨关节炎,膝

**[中图分类号]** R493

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2018)16-2216-03

膝骨关节炎(knee osteoarthritis, KOA)是一种以关节软骨变性、破坏、丢失为主要病理特点的慢性退行性疾病,临床表现为进展性膝关节疼痛、肿胀、僵硬、活动受限,是导致中老年人活动障碍的主要原因<sup>[1]</sup>。临床治疗尚无特效方法,主要以缓解疼痛、改善症状、延缓疾病进展为目的,治疗方式有肌力训练、物理因子治疗,口服消炎镇痛药物,关节内注射透明质酸钠等,终末期患者多采用手术治疗。富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)是由外周血经多次离心后所得,活化后的 PRP 释放多种生长因子、细胞因子,具有修复软骨病变、调控炎症反应等作用,是近年来研究的热点。越来越多的研究表明关节内注射 PRP 可有效改善 KOA 患者关节疼痛、活动受限等临床症状,提高患者的生活质量,且疗效优于透明质酸钠<sup>[2-5]</sup>。

## 1 PRP 概述

PRP 是由全血经梯度离心分离而得,含血小板浓度是普通全血的 3 倍或以上,其主要成分有血小板、白细胞和纤维蛋白。PRP 有不同的系统分类<sup>[6-8]</sup>,2009 年 DOHAN EHRENFEST 等<sup>[8]</sup>根据 PRP 中白细胞和纤维蛋白含量的不同将其分为以下 4 类:纯富血小板纤维蛋白(pure platelet-rich fibrin, P-PRF),富白细胞富血小板纤维蛋白(leukocyte- and platelet-rich fibrin, L-PRF),纯富血小板血浆(pure platelet-rich plasma, P-PRP),富白细胞富血小板血浆(leukocyte-and platelet-rich plasma, L-PRP)。该分类方法现被广泛引用,是许多领域的共识基础。

目前 PRP 尚无统一制作标准,可分为专业 PRP 制备仪制备和手工操作制备。专业制备仪操作简便,但成本高。手工制备经济方便,多遵循二次离心法原则,第一次相对低速离心,由于红细胞沉降系数最大,

所以红细胞被离心至管底,第二次相对高速离心是取上清液进行,血小板被离心至管底,留取适量血浆重悬血小板,即可获得最佳浓度的 PRP<sup>[9]</sup>。目前研究表明,不同的离心力、离心时间、离心次数制备得到的产物,其生物特性和潜在用途也不同,这在一定程度上影响着 PRP 的临床疗效<sup>[10]</sup>。因此,在制备 PRP 之前,需首先找到与离心设备匹配的离心方法,而不能盲目地参照文献报道的离心方案<sup>[11]</sup>。

PRP 通常需激活剂(如氯化钙、巴曲酶、壳聚糖和凝血酶等)活化,活化后将释放出一系列生长因子和细胞因子,它们在组织修复各个阶段均发挥着重要作用,如血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF),可调节胶原、蛋白多糖的分泌和合成,促使软骨细胞分裂、增殖、成熟、分化<sup>[12]</sup>;转化生长因子 $\beta$ (TGF- $\beta$ )可诱导软骨细胞蛋白聚糖和 II 型胶原的增加,刺激细胞外基质生成,同时有效抵抗软骨细胞分解代谢<sup>[13]</sup>;结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)发挥着支持血管生成,促进软骨再生的作用<sup>[14]</sup>;血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是血管生成和发生的主要调节因子,并促进组织再生;肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)可介导核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)反式激活活性,通过抑制单核细胞趋化性而发挥抗炎作用,同时为软骨细胞再生奠定基础<sup>[15]</sup>;另外,PRP 中的表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、血小板因子 4 等也在促组织愈合过程中发挥着重要作用<sup>[16]</sup>。

## 2 PRP 治疗 KOA 的作用机制研究

国内外研究者已通过大量基础及动物研究,探索了 PRP 治疗 KOA 的作用机制。王刚<sup>[17]</sup>采用关节内注射 PRP 治疗兔 KOA,结果显示 PRP 可促进软骨基

质中Ⅱ型胶原和蛋白多糖合成,使软骨基质修复、软骨细胞再生,并抑制软骨组织中基质金属蛋白酶(MMP)-13 蛋白及其 mRNA 表达,有效防止基质胶原降解,延缓 KOA 疾病进展。原晓强等<sup>[18]</sup>将生理盐水,低( $1 \times 10^6$  个/mL)、中( $1 \times 10^7$  个/mL)、高( $1 \times 10^8$  个/mL)3 种浓度 P-PRP 分别与大鼠膝关节软骨细胞共同培养,结果显示 P-PRP 各浓度组软骨细胞活力高于生理盐水组,且 P-PRP 高浓度组细胞活力高于低、中浓度组;该学者随后进行了动物实验,将高浓度的 P-PRP 注入 KOA 大鼠双侧后肢膝关节腔,治疗结束后步态分析发现,P-PRP 治疗组大鼠双侧后肢着地面积均大于模型组(注射等量生理盐水),与空白组相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );膝关节 X 射线及病理学观察发现,P-PRP 治疗组大鼠膝关节软骨退变程度较模型组轻微,因此得出高浓度 P-PRP 对改善关节运动能力、修复大鼠膝关节软骨有积极作用。MOUSSA 等<sup>[19]</sup>将 KOA 患者软骨细胞与 PRP 共同培养,结果显示软骨细胞中 MMP-3、MMP-13 和聚蛋白多糖酶-5、白细胞介素(IL)-6 和环氧化酶(COX)-2 呈剂量依赖性降低,TGF- $\beta$ 、Ⅱ型胶原、金属蛋白酶抑制剂和细胞内抗炎因子(IL-4、IL-10、IL-13)的表达明显增加,软骨细胞显著增殖,凋亡减少,自噬标志物及其调节物(转录因子 FOXO1、FOXO3 蛋白和低氧诱导因子-1)的表达增加,从而逆转了软骨细胞的衰老。由此发现,PRP 不仅可以促进组织修复,还可抑制 IL-1 $\beta$ 、COX-2 和 MMP-2 基因表达,抵消 IL-1 $\beta$  和肿瘤坏死因子- $\alpha$  引起的炎症级联,从而调控 KOA 病理炎症反应,进而达到治疗 KOA 的目的<sup>[20]</sup>。

目前,用于研究的 PRP 种类不尽相同,PAR-RISH 等<sup>[21]</sup>研究发现,与全血相比,P-PRP 中 EGF、TGF- $\beta$ 1 水平显著降低,对人类髌腱成纤维细胞没有明显增殖刺激作用;相比之下,L-PRP 中生长因子水平更高,且明显刺激肌腱细胞增殖,因此该研究者认为 PRP 中白细胞等非血小板细胞成分对生长因子释放、刺激细胞增殖有着重要作用。也有研究者认为,PRP 中白细胞并不利于 KOA 治疗,BRAUN 等<sup>[22]</sup>发现,将 L-PRP 与人滑膜细胞共同培养,滑膜细胞出现明显死亡,促炎介质(IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ )水平明显升高。YIN 等<sup>[23]</sup>研究表明,P-PRP 在预防兔膝关节软骨破坏、保护软骨基质、降低 IL-1 $\beta$  和前列腺素(PGE2)水平方面较 L-PRP 有更好的效果;此外,该研究还发现注射 NF- $\kappa$ B 通道抑制剂可反转 L-PRP 组关节积液增加的 IL-1 $\beta$  和 PGE2 水平,并将 L-PRP 注射结果改善至类似于 P-PRP 组水平,且疗效没有影响。因此得出结论:L-PRP 中白细胞的集中可能通过激活 NF- $\kappa$ B 信号通路,升高促炎细胞因子水平而抵消生长因子对 KOA 软骨的有益效果。目前 PRP 中白细胞的作用仍存在争议,需要进一步研究证实,但大多数研究者建议修复关节炎时,应使用 P-PRP。

### 3 PRP 关节内注射治疗 KOA 的临床研究

随着研究者对 PRP 关注度增加,国内外也陆续出现相关临床研究,均表明关节内注射 PRP 可有效改善 KOA 患者关节疼痛、活动受限等症状,提高患者的生活质量。RAEISSADAT 等<sup>[2]</sup>发现 PRP 关节内注射治疗后 1、3、12 个月,KOA 患者美国西安大略和麦克马斯特大学骨关节炎指数(WOMAC)较治疗前明显降低,生活质量调查表(SF-36)评分较前改善,且疗效优于透明质酸(hyaluronic acid, HA)。MONTANEZ-HEREDIA 等<sup>[3]</sup>也发现,与 HA 相比,PRP 更能有效减轻 KOA 患者疼痛,改善其运动功能,提高生活质量,且早期 KOA 患者可获得更好的疗效。LANA 等<sup>[4]</sup>进行了一项随机对照试验,比较了超声引导下关节腔注射 PRP(5.0 mL P-PRP)、HA(2.0 mL HA)和二者联合(2.0 mL HA+5.0 mL P-PRP)对轻中度 KOA 的临床疗效,每次注射间隔 2 周,共 3 次,治疗后采用 WOMAC、视觉模拟评分法(VAS)评价疗效,结果显示:与 HA 组相比,PRP 组在 1、3、6 和 12 个月时 VAS 评分明显降低,12 个月时 WOMAC 量表提示 PRP 组患者身体活动功能改善更为明显,HA+PRP 组与 HA 组、PRP 组相比,在缓解疼痛、改善关节活动方面有更好的疗效。在翟文亮等<sup>[5]</sup>的研究中,PRP 组患者关节内注射 PRP 6~7 mL,对照组注射 2 mL 透明质酸钠,每两周注射 1 次,共 3 次,治疗后 3、6、9、12 个月用 WOMAC 量表评价关节功能,治疗前和治疗后 12 个月通过膝关节磁共振观察关节积液情况,结果显示 PRP 注射治疗的临床效果优于透明质酸钠,且中长期疗效好。JOSHI JUBERT 等<sup>[24]</sup>用单纯白细胞减少 PRP 4 mL 关节内单次注射治疗晚期 KOA 患者(Ⅲ~Ⅳ级),长期随访发现该方案可有效改善患者日常活动功能及生活质量,且效力优于单次注射皮质类固醇。SHEN 等<sup>[25]</sup>对包含 1 423 例 KOA 患者的 14 项随机对照试验进行荟萃分析,结果显示 PRP 注射后 3、6 和 12 个月,WOMAC 疼痛分数明显降低( $P=0.020$ 、 $0.004$ 、 $<0.001$ ),WOMAC 量表身体功能分数得到改善( $P=0.002$ 、 $0.010$ 、 $<0.001$ ),且没有明显增加注射后不良事件的风险( $RR:1.40$ ,  $95\%CI:0.80 \sim 2.45$ ,  $I^2=59\%$ ,  $P=0.240$ )。因此,与注射盐水、HA、臭氧和皮质类固醇相比,关节内注射 PRP 治疗 KOA 疗效更佳。

通过以上研究,笔者还发现 PRP 的应用方案不统一,如各研究者采用不同的 PRP 制备方法,导致 PRP 成分组成差异;此外,PRP 注射方案在各研究中也并不相同,如 JOSHI JUBERT 等<sup>[24]</sup>采用单次 PRP 注射,而 RAEISSADAT 等<sup>[2]</sup>、MONTANEZ-HEREDIA 等<sup>[3]</sup>研究者都采用多次注射法,但其注射间隔时间、单次剂量也不一致,这些差异都将在一定程度上影响 PRP 对 KOA 的疗效,因此 PRP 的临床应用方案需进一步规范。关于 PRP 注射的安全性,有研究

显示部分患者在注射 PRP 后有轻微局部肿痛,数天内可自行缓解,与该治疗相关的出血、血肿、发热等严重并发症尚未发现<sup>[26]</sup>;PRP 有效治疗浓度尚无统一观点,一般认为 4~5 倍血小板浓度的 PRP 促组织修复效力高,更高的浓度并没有表现出更好的修复效果<sup>[27]</sup>;GRAZIANI 等<sup>[28]</sup>体外实验也发现 PRP 中血小板浓度过高反而会抑制细胞增殖,因此 PRP 治疗 KOA,不支持“更多更好”的血小板浓度。

#### 4 小 结

KOA 是导致中老年人活动障碍的主要原因,随着我国人口老龄化速度加快,KOA 引发的社会问题越发突出,因此迫切需要开发经济有效的治疗方案。国内外研究已证实 PRP 对 KOA 有较好的临床疗效,且操作方便、经济,具有广阔的应用前景,但其长期疗效及安全性还需大量标准化临床研究随访观察;同时 PRP 制备、治疗方案、最适浓度等问题还需规范、统一,待这一系列问题得到进一步解决及完善,PRP 有望开辟 KOA 临床治疗的新途径。

#### 参考文献

[1] 吕苏梅,张瑞丽.中老年膝骨关节炎的流行病学研究进展[J].中国老年学杂志,2016,36(16):4133-4135.

[2] RAEISSADAT S A, RAYEGANI S M, HASSANABADI H, et al. Knee osteoarthritis injection choices: platelet-rich plasma (prp) versus hyaluronic acid (a one-year randomized clinical trial) [J]. Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord, 2015, 8: 1-8.

[3] MONTANEZ-HEREDIA E, IRIZAR S, HUERTAS P J, et al. Intra-articular injections of platelet-rich plasma versus hyaluronic acid in the treatment of osteoarthritic knee pain: a randomized clinical trial in the context of the Spanish National Health Care System [J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(7): 1064.

[4] LANA J F, WEGLEIN A, SAMPSON S E, et al. Randomized controlled trial comparing hyaluronic acid, platelet-rich plasma and the combination of both in the treatment of mild and moderate osteoarthritis of the knee [J]. J Stem Cells Regen Med, 2016, 12(2): 69-78.

[5] 翟文亮,周亮,刘晖,等.富血小板血浆与透明质酸钠治疗膝关节骨关节炎的临床观察[J].中华关节外科杂志,2017,11(1):96-100.

[6] MISHRA A, HARMON K, WOODALL J, et al. Sports medicine applications of platelet rich plasma [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2012, 13(7): 1185-1195.

[7] DELONG J M, RUSSELL R P, MAZZOCCA A D. Platelet-rich plasma: the PAW classification system [J]. Arthroscopy, 2012, 28(7): 998-1009.

[8] DOHAN EHRENFEST D M, RASMUSSEN L, ALBREKTSSON T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) [J]. Trends Biotechnol, 2009, 27(3): 158-167.

[9] 付维力,李棋,李箭.富血小板血浆制备技术及其组分的研究进展[J].中国修复重建外科杂志,2014,28(12):1560-1564.

[10] FITZPATRICK J, BULSARA M K, MCCRORY P R, et al. Analysis of platelet-rich plasma extraction: variations in platelet and blood components between 4 common commercial kits [J]. Orthop J Sports Med, 2017, 5(1): 2325967116675272.

[11] 张长青,袁霆.富血小板血浆在临床应用中的争议与研究进展[J/CD].中华关节外科杂志(电子版),2016,10(6):588-591.

[12] 张忠民,陈建庭,金大地.血小板衍生生长因子-BB 促进骨关节炎关节软骨修复[J].中华医学杂志,2005,85(46):63-64.

[13] BLANEY DAVIDSON E N, VAN DER KRAAN P M, VAN DEN BERG W B. TGF-beta and osteoarthritis [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2007, 15(6): 597-604.

[14] CIVININI R, MACERA A, NISTRINI L, et al. The use of autologous blood-derived growth factors in bone regeneration [J]. Clin Cases Miner Bone Metab, 2011, 8(1): 25-31.

[15] BENDINELLI P, MATTEUCCI E, DOGLIOTTI G, et al. Molecular basis of anti-inflammatory action of platelet-rich plasma on human chondrocytes: mechanisms of NF-kappaB inhibition via HGF [J]. J Cell Physiol, 2010, 225(3): 757-766.

[16] DHILLON M S, PATEL S, JOHN R. PRP in OA knee update, current confusions and future options [J]. Sicot J, 2017, 3: 27.

[17] 王刚. PRP 对兔 KOA 退变软骨 II 型胶原、蛋白多糖、MMP-13 及 mRNA 表达影响的实验研究 [D]. 成都:成都体育学院,2016.

[18] 原晓强,金王东,周云婧,等.纯化血小板对大鼠软骨细胞增殖及膝关节大鼠软骨修复的作用研究 [J]. 中医正骨, 2016, 28(12): 6-12.

[19] MOUSSA M, LAJEUNESSE D, HILAL G, et al. Platelet rich plasma (PRP) induces chondroprotection via increasing autophagy, anti-inflammatory markers, and decreasing apoptosis in human osteoarthritic cartilage [J]. Exp Cell Res, 2017, 352(1): 146-156.

[20] WU C C, CHEN W H, ZAO B, et al. Regenerative potentials of platelet-rich plasma enhanced by collagen in retrieving pro-inflammatory cytokine-inhibited chondrogenesis [J]. Biomaterials, 2011, 32(25): 5847-5854.

[21] PARRISH W R, ROIDES B, HWANG J, et al. Normal platelet function in platelet concentrates requires non-platelet cells: a comparative in vitro evaluation of leucocyte-rich (type 1a) and leucocyte-poor (type 3b) platelet concentrates [J]. BMJ Open Sport Exerc Med, 2016, 2(1): e000071.

[22] BRAUN H J, KIM H J, CHU C R, et al. The effect of platelet-rich plasma formulations and blood products on human synoviocytes: implications for intra-articular injury and therapy [J]. Am J Sports Med, 2014, 42(5): 1204-1210.

- 2017,31(3):157-164.
- [15] 赵林双,乐岭,戚本玲,等.二甲双胍对高血压合并 II 型糖尿病患者降压作用临床观察[J].中国医院药学杂志,2005,25(1):57-58.
- [16] 李福平.依那普利、二甲双胍联合治疗 2 型糖尿病合并高血压降压疗效观察[J].中华实用医药杂志,2009,9(8):578-579.
- [17] 冯琼,吴朝霞,潘磊,等.氨基地平联合二甲双胍治疗中国人群肥胖型高血压效果的 meta 分析[J].临床心血管病杂志,2015,31(12):1314-1318.
- [18] JI L, LI H M, GUO X H, et al. Impact of baseline BMI on glycemic control and weight change with metformin monotherapy in Chinese type 2 diabetes patients: phase IV open-label trial[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e57222.
- [19] SCHNELL O, WENG J, SHEU W H, et al. Acarbose reduces body weight irrespective of glycemic control in patients with diabetes: results of a worldwide, non-interventional, observational study data pool[J]. J Diabetes Complications, 2016, 30(4): 628-637.
- [20] ZHOU J, DENG Z, LU J, et al. Differential therapeutic effects of nateglinide and acarbose on fasting and postprandial lipid profiles: a randomized trial[J]. Diabetes Technol Ther, 2015, 17(4): 229-234.
- [21] JOSHI S R, STANDL E, TONG N, et al. Therapeutic potential of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors in type 2 diabetes mellitus: an evidence-based review[J]. Expert Opin Pharmacother, 2015, 16(13): 1959-1981.
- [22] MONAMI M, VITALE V, AMBROSIO M L, et al. Effects on lipid profile of dipeptidyl peptidase 4 inhibitors, pioglitazone, acarbose, and sulfonylureas: meta-analysis of placebo-controlled trials[J]. Adv Ther, 2012, 29(9): 736-746.
- [23] CHEN J M, CHANG C W, LIN Y C, et al. Acarbose treatment and the risk of cardiovascular disease in type 2 diabetic patients: a nationwide seven-year follow-up study [J]. J Diabetes Res, 2014, 2014: 812628.
- [24] PAUL S K, SHAW J E, MONTVIDA O, et al. Weight gain in insulin-treated patients by body mass index category at treatment initiation: new evidence from real-world data in patients with type 2 diabetes[J]. Diabetes Obes Metab, 2016, 18(12): 1244-1252.
- [25] SKYLER J S, BERGENSTAL R, BONOW R O, et al. Intensive glycemic control and the prevention of cardiovascular events: implications of the ACCORD, ADVANCE, and VA diabetes trials: a position statement of the American Diabetes Association and a scientific statement of the American College of Cardiology Foundation and the American Heart Association[J]. Diabetes Care, 2009, 32(1): 187-192.
- [26] NATHAN D M, BUSE J B, DAVIDSON M B, et al. Medical management of hyperglycaemia in type 2 diabetes mellitus: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes[J]. Diabetologia, 2009, 52(1): 17-30.
- [27] LINGVAY I, KALOYANOVA P F, ADAMS-HUET B, et al. Insulin as initial therapy in type 2 diabetes: effective, safe, and well accepted[J]. J Investig Med, 2007, 55(2): 62-68.
- [28] CURRIE C J, PETERS J R, TYNAN A, et al. Survival as a function of HbA(1c) in people with type 2 diabetes: a retrospective cohort study[J]. Lancet, 2010, 13(3): A56.
- [29] STOEKENBROEK R M, RENSING K L, MOENS S J B, et al. High daily insulin exposure in patients with type 2 diabetes is associated with increased risk of cardiovascular events[J]. Atherosclerosis, 2015, 240(2): 318-323.

(收稿日期:2018-01-06 修回日期:2018-03-14)

(上接第 2218 页)

- [23] YIN W J, XU H T, SHENG J G, et al. Advantages of pure platelet-rich plasma compared with leukocyte-and platelet-rich plasma in treating rabbit knee osteoarthritis [J]. Med Sci Monit, 2016, 22: 1280-1290.
- [24] JOSHI JUBERT N, RODRIGUEZ L, REVERTÉ-VINAIXA M M, et al. Platelet-rich plasma injections for advanced knee osteoarthritis: a prospective, randomized, double-blinded clinical trial [J]. Orthop J Sports Med, 2017, 5(2): 2325967116689386.
- [25] SHEN L, YUAN T, CHEN S, et al. The temporal effect of platelet-rich plasma on pain and physical function in the treatment of knee osteoarthritis: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. J Orthop Surg Res, 2017, 12(1): 1-12.
- [26] 胡晓源,施能兵,许尘塵.富血小板血浆治疗膝骨关节炎疗效及安全性的系统评价[J/CD].中华关节外科杂志(电子版),2014,8(6):72-77.
- [27] MAZZOCCA A D, MCCARTHY M B, CHOWANIEC D M, et al. The positive effects of different platelet-rich plasma methods on human muscle, bone, and tendon cells [J]. Am J Sports Med, 2012, 40(8): 1742-1749.
- [28] GRAZIANI F, IVANOVSKI S, CEI S, et al. The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts [J]. Clin Oral Implants Res, 2006, 17(2): 212-219.

(收稿日期:2018-01-02 修回日期:2018-03-10)