

论著·临床研究

软骨多参数磁共振成像评估脂肪间充质祖细胞治疗膝骨关节炎效果的价值

阮晶晶^{1,2}, 路青², 唐辉², 朱震娅², 范瑜², 赵欣欣², 钮晓音¹

1. 上海交通大学医学院, 上海市免疫学研究所, 上海 200025; 2. 上海交通大学医学院附属仁济医院放射科, 上海 200127

[摘要] 目的 · 分析膝关节软骨多参数磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 在评估异体人源脂肪间充质祖细胞 (human adipose-derived mesenchymal progenitor cells, haMPCs) 治疗骨关节炎效果中的价值。方法 · 对 22 例膝骨关节炎受试者给予 haMPCs 治疗, 根据给药剂量随机分为低、中和高 3 个剂量组。在治疗前及治疗后第 48 周分别对治疗膝关节进行西安大略大学和麦克马斯特大学骨关节炎指数 (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index, WOMAC) 评分和软骨多参数 MRI 扫描 (3D-SPGR, T2-mapping, T2*-mapping、T1ρ-mapping 和 DWI), 测量并记录治疗前后受试者 WOMAC 评分、软骨体积、T2 值、T2* 值、T1ρ 值与表现扩散系数 (apparent diffusion coefficient, ADC) 值, 比较治疗前后及不同剂量组间这些评估指标的变化。结果 · 18 例受试者完成了 WOMAC 评分及 2 次 MRI 检查。治疗后, 除软骨体积外, 所有受试者 WOMAC 评分、T2 值、T2* 值、T1ρ 值及 ADC 值与治疗前均存在显著差异 ($P<0.05$)。各剂量组治疗前后比较显示: WOMAC 评分、T2* 值及 T1ρ 值在 3 个剂量组均可见显著性改变 ($P<0.05$); T2 值在中、高剂量组可见显著性改变 ($P<0.05$); ADC 值仅在高剂量组发生显著变化 ($P=0.026$); 而软骨体积未见显著性变化 ($P>0.05$)。进一步组间比较显示: 治疗前各评估指标均无显著差异 ($P>0.05$); 治疗后仅高剂量组与低剂量组间受试者软骨 T1ρ 值存在显著差异 ($P=0.012$)。结论 · 多参数软骨 MRI 组织成分成像可用于评估 haMPCs 治疗骨关节炎的效果, 较软骨体积评估可能更敏感。

[关键词] 膝骨关节炎; 磁共振成像; 间充质祖细胞

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2019.12.011 **[中图分类号]** R684.3 **[文献标志码]** A

Value of multi-parameter magnetic resonance imaging of cartilage in evaluating efficacy of adipose-derived mesenchymal progenitor cells on knee osteoarthritis

RUAN Jing-jing^{1,2}, LU Qing², TANG Hui², ZHU Zhen-ya², FAN Yu², ZHAO Xin-xin², NIU Xiao-yin¹

1. Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai Institute of Immunology, Shanghai 200025, China; 2. Department of Radiology, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China

[Abstract] Objective · To analyze the value of multi-parametric magnetic resonance imaging (MRI) of knee cartilage in evaluating the efficacy of allogeneic human adipose-derived mesenchymal progenitor cells (haMPCs) on the treatment of osteoarthritis. Methods · Twenty-two patients with knee osteoarthritis were treated with haMPCs and randomly divided into three dose groups, low, medium and high, according to the medication dose. Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) score and carotid multi-parametric MRI scans which include 3D-SPGR, T2-mapping, T2*-mapping, T1ρ-mapping and DWI were performed before and after 48 weeks' treatment. The WOMAC score, cartilage volume, T2 value, T2* value, T1ρ value and apparent diffusion coefficient (ADC) value were recorded. The index changes and the inter-group differences were compared. Results · A total of 18 candidates completed the WOMAC score evaluations and MRI examinations twice. After treatment, except for cartilage volume, WOMAC score, T2 value, T2* value, T1ρ value and ADC value of all subjects were significantly different from those before treatment ($P<0.05$). WOMAC score, T2* value and T1ρ value were significantly changed in all groups ($P<0.05$), and T2 value was significantly changed in the medium dose group and high dose group ($P<0.05$). ADC value was significantly changed in the high dose group ($P=0.026$) while there was no significant changes in cartilage volume ($P>0.05$). The inter-group comparisons showed that there was no significant difference before treatment ($P>0.05$), but there was a significant difference of T1ρ in cartilage between the high-dose group and the low-dose group ($P=0.012$) after treatment. Conclusion · Multi-parametric cartilage MRI can be used to evaluate the efficacy of haMPCs treatment on osteoarthritis, which may be more sensitive than cartilage volume assessment.

[Key words] knee osteoarthritis; magnetic resonance imaging (MRI); mesenchymal progenitor cell

[基金项目] 国家自然科学基金 (81871269); 上海市卫生和计划生育委员会科研课题面上项目 (201640137) (National Nature Science Foundation of China, 81871269; Scientific Research Project of Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning, 201640137)。

[作者简介] 阮晶晶 (1986—), 女, 硕士生; 电子信箱: yuanzhubiruan@sina.com。

[通信作者] 钮晓音, 电子信箱: niuxiaoyin@163.com。



膝骨关节炎 (knee osteoarthritis, KOA) 是一种常见的慢性退行性疾病，多发于中老年群体。研究^[1]表明，60岁以上的人群中 KOA 患病率达 50%，75 岁以上人群中高达 80%；其临床症状主要表现为关节痛、僵硬、活动性丧失，偶尔有积液和不同程度的局部炎症，致残率达 53%。传统治疗方法有药物性、物理性康复治疗等，传统保守疗法只能在一定程度上缓解症状，但不能逆转 KOA 的病理过程。因此，寻找新的治疗方法来减缓或逆转 KOA 软骨退变进程成为近年来研究的热点。

有研究^[2-3]表明，通过关节腔内注射脂肪源性间充质祖细胞 (adipose-derived mesenchymal progenitor cells, AD-MPCs)、自体骨髓源性间充质干细胞 (autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BM-MSCs) 以及脂肪源性间充质干细胞 (adipose-derived mesenchymal stem cells, AD-MSCs) 等都对关节软骨具有较强的修复作用。其研究疗效评估多采用普通 X 线及常规磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI)、关节镜检查等方法，这些方法只能检测较为明显的形态学变化，而对软骨内的组织结构及软骨成分的改变无法进行定量评估，因此缺乏评估敏感性，常与受试者症状改善程度不一致。

MRI 软骨成像因其无创性、高分辨率、多参数等优势在 KOA 研究中越来越受到重视。通过 MRI 软骨成像，可对关节软骨进行体积测量，并可对不同软骨成分进行特异性成像，在软骨退变的评估中发挥着越来越重要的作用。这些成像序列包括扰相梯度回波 (spoiled gradient recalled echo, SPGR)、T2-mapping、T1ρ-mapping、T2*-mapping 以及弥散加权成像 (diffusion weighted imaging, DWI)，可用于测量关节软骨体积 (cartilage volume, CV) 或选择性地评估软骨细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 中的糖胺聚糖 (glycosaminoglycan, GAG) 和胶原纤维网络。T2-mapping 技术利用多回波自旋序列可测量不同组织的横向弛豫时间，间接反映关节软骨内水含量^[4]。T1ρ-mapping 技术首先施加 180° 反转脉冲，经特定时间延时后施加自旋回波序列，反映关节软骨 GAG 和胶原特异性变化及软骨 ECM 中的非特异性变化^[5]。T2*-mapping 成像通过多个梯度回波的散相效应获得 T2* 弛豫时间，通过测量局部场不均匀性和磁化率的差异来反映关节软骨组织结构变化。DWI 则通过施加多个扩散敏感梯度来评估软骨 ECM 内水分子的运动状况，反映软骨内 ECM 的结构退化情况^[6]。目前这些成像技术多用于骨关节炎软骨退变的研究，但在评估间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 修复关节软骨中的价值并不清楚。本研究通过关

节 CV 测量及组织成分多参数 MRI 成像 (T2-mapping、T1ρ-mapping、T2*-mapping 及 DWI)，分析其在评估同源异体 AD-MPCs 修复 KOA 受试者软骨疗效中的价值。

1 对象与方法

1.1 临床资料

本研究受试者来源于一项随机的、双盲的 I / II a 期临床试验，临床试验注册号为 NCT02641860，国家卫生健康委员会备案号 CMR-20161214-1004。该研究得到了伦理委员会批准，招募的 22 名 KOA 受试者均知悉试验方案设计并签署了知情同意书。所有受试者在基线时间接受关节腔内注射同源异体人源脂肪间充质祖细胞 (human adipose-derived mesenchymal progenitor cells, haMPCs)，随访 48 周。采用西安大略大学和麦克马斯特大学骨关节炎指数 (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index, WOMAC) 疼痛量表问卷，对 KOA 的疾病严重性和运动症状严重性进行评估。

病例入组和排除标准如下。入组标准：①膝关节炎诊断病程 ≥ 6 个月，且 <10 年。②双膝关节疼痛视觉模拟评分 (visual analog scale, VAS) ≥ 3 分，且 <8 分 (采集时间为停止使用所有止痛类药物后至少 3 d)。③双膝关节 X 线影像分析的 Kellgren-Lawrence 评分 < IV 级。④能够自主行走。排除标准：①受试者体质质量指数 (body mass index, BMI) >30。②合并全身性或风湿性关节炎软骨病、关节软骨钙质沉着症、血色素沉着症、炎症性关节病、股骨头缺血性坏死、畸形性骨炎 (佩吉特骨病)、血友病性关节病、感染性关节炎、沙尔科 (Charcot) 关节病、绒毛结节性滑膜炎、滑膜软骨瘤病等。③在研究开始前 4 周内，接受过氨基葡萄糖或硫酸软骨素类药物治疗。④在研究开始前 3 个月内，患有较为严重的全身性感染或膝关节局部感染。⑤在研究开始前 6 个月内，接受膝关节镜手术或其他在膝关节局部操作的开放性手术；或接受过关节腔内药物注射治疗膝骨关节炎。⑥受试者有恶性肿瘤史或凝血功能障碍。⑦受试者具有 MRI 检查禁忌证。

1.2 研究设计

将 22 例受试者根据异体 haMPCs 注射液 (AlloJoin®) 给药剂量分为低剂量组 (每 3 mL 注射液含 1×10^7 个细胞)、中剂量组 (每 3 mL 注射液含 2×10^7 个细胞) 和高剂量组 (每 3 mL 注射液含 5×10^7 个细胞)。每组均向膝



关节腔注入 haMPCs 注射液 2 次, 注射间隔 3 周。对所有受试者在第一次注射前 1 周内进行患侧膝关节多参数 MRI 成像作为基线数据, 在注射后 48 周再次进行多参数 MRI 成像作为本实验的终点数据。

1.3 MRI 检查

所有膝关节软骨多参数 MRI 成像均采用同一台 3.0T 磁共振成像仪 (Signa, GE Medical Systems) 和 8 通道膝关节线圈。①常规扫描序列: 矢状面 T1WI (TR/TE: 560 ms/10.2 ms)、PDWI (TR/TE: 2 260 ms/30 ms)、T2WI/ 脂肪抑制 (TR/TE: 2 600 ms/68 ms)、冠状面 T2WI/ 脂肪抑制 (TR/TE: 2 600 ms/68 ms) 和横断面 T2WI/ 脂肪抑制 (TR/TE: 2 600 ms/68 ms)。以上常规序列主要用于对 KOA 情况进行评估。②软骨多参数 MRI 扫描序列: 3D 容积扰相梯度回波 (3D spoiled gradient recalled echo, 3D-SPGR)、T1ρ-mapping、T2-mapping、T2*-mapping 和 DWI。在 T1ρ-mapping 扫描序列中, 采用多回波自旋回波序列, 自旋锁定脉冲的振幅为 500 Hz, 测量不同回波时间 (10 ms/20 ms/30 ms/50 ms) 的 MRI 信号强度。自旋锁定持续时间 =10 ms/20 ms/30 ms/50 ms。T2-mapping 扫描参数: TR=1 125 ms, TE1=7.6 ms, Δ TE=6 ms, 回波次数 =8, FOV=160 mm × 160 mm, 矩阵分辨率 =320 × 192, 层厚 =4 mm, 层数 =16。T2*-mapping 采用梯度回波, 扫描参数: TR=60 ms, TE1=6.8 ms, Δ TE=6.8 ms, 回波次数 =8, 翻转角度 =15°, FOV=180 mm × 180 mm, 矩阵分辨率 =384 × 320, 层厚 =1.2 mm, 层数 =128。DWI 采用单激发自旋回波平面成像技术, 其参数: TR=4 550 ms, TE=80 ms, FOV=200 mm × 200 mm, 矩阵分辨率 =110 × 110, 层厚 =5 mm, 层数 =20。选择 2 个 b 值进行扫描, 分别为 0 s/mm² 和 500 s/mm², 信号平均次数为 4 次。

1.4 评估方法

1.4.1 临床 WOMAC 评分 采用 WOMAC 评分量表, 从疼痛、僵硬和关节功能 3 个方面来评价膝关节的结构和功能, 覆盖整个骨关节炎的基本症状和体征。以问卷形式收集信息, 由高年资骨科专家评分。

1.4.2 MRI 评估方法 获取软骨多参数 MRI 图像后, 将治疗侧膝关节软骨分为 5 段进行评估 (图 1)。包括股骨内侧髁 (medial femoral condyle, MF)、外侧髁 (lateral femoral condyle, LF)、内侧胫骨 (medial tibia, MT)、外侧胫骨 (lateral tibia, LT) 和髌骨 (patella, P)。分别进行 CV 测量和软骨组织成分多参数分析。

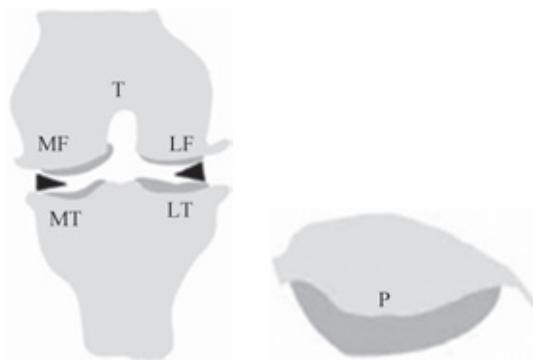


图 1 膝关节软骨分区示意图

Fig 1 Schematic diagram of knee joint cartilage

(1) CV 测量 使用 ITK-SNAP 软件在 3D-SPGR 序列上逐层手动勾画各分区软骨边界, 包括 MF、LF、MT、LT、P 各分区关节软骨, 然后计算出 CV (图 2)。

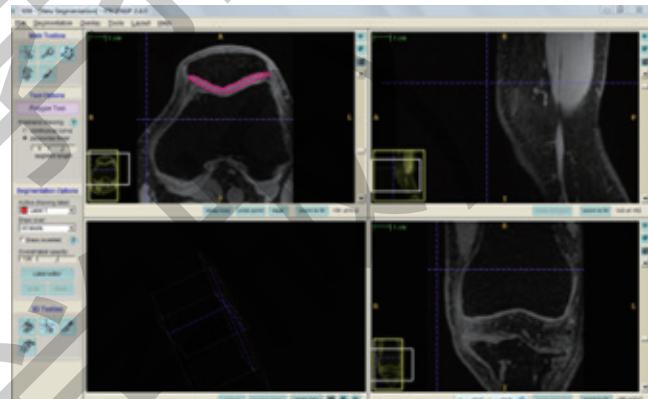


图 2 ITK-SNAP 软件分割软骨及体积计算示意图

Fig 2 Segmentation of cartilage by ITK-SNAP software and diagram of volume calculation

(2) 软骨组织成分多参数测量 将 T2-mapping、T2*-mapping、T1ρ-mapping 和 DWI 各序列 MRI 图像传至 GE 磁共振后处理工作站 (Version AW4.6), 使用相应后处理软件分别完成软骨各分区 T2 值、T2* 值、T1ρ 值及表观扩散系数值 (apparent diffusion coefficient, ADC) 的测量。测量时各软骨分区勾画范围的大小与体积测量的范围一致, 各分区测量后计算所有软骨分区的平均值作为最后测量值。

1.5 统计学分析

所有软骨多参数 MRI 数据均由 2 名具有骨关节炎影像诊断经验的医师在不知道治疗分组的情况下进行双盲测量与分析。测量结果计入数据采集表, 定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。比较高、中、低剂量组间及治疗前后软骨 MRI 各参数测量值的变化。各测量值治疗前后比较时先进行正态性检



验：若服从正态分布，则采用配对 *t* 检验；若不服从正态分布，则采用符号秩和检验。高、中、低剂量组组间比较采用线性模型分析。所有检验均采用双侧检验。采用 SPSS 17.0 统计分析软件进行数据处理，显著性水平设定为 0.05。

2 结果

2.1 人口学特征

本研究是一项单中心、随机、双盲的临床试验，计划纳入 22 例受试者，分别为高剂量组 7 例、中剂量组 8 例和低剂量组 7 例。3 个剂量组受试者间年龄、BMI、病程比较，差异无统计学意义 ($P=0.773$, $P=0.054$, $P=0.112$)；3 组间 Kellgren-Lawrence 分级比较，差异无统计学意义 ($P=1.000$) (表 1)。

表 1 研究对象人口学特征

Tab 1 Demographic characteristics of subjects

指标	高剂量组 (N=7)	中剂量组 (N=8)	低剂量组 (N=7)
年龄 / 岁	57.20±5.61	57.30±7.84	59.29±4.14
性别 / n			
女性	7	6	6
男性	0	2	1
BMI / (kg/m ²)	24.51±2.49	26.69±2.63	27.77±1.93
病程 / 月	41.71±36.70	80.12±25.21	62.63±38.11
X 线 Kellgren-Lawrence 分级 / n			
0 级	0	0	0
I 级	0	0	0
II 级	3	4	3
III 级	4	4	4
IV 级	0	0	0

2.2 受试者及多参数软骨 MRI 检查

本临床试验结束时，4 例受试者因中途失访未被纳入

研究，其中高剂量组 1 例女性、中剂量组 1 例男性和 1 例女性、低剂量组 1 例女性脱落；最终入组 18 例，各剂量组均为 6 例。18 例受试者均完成了 2 次膝关节 MRI 检查，图像质量均可以进行评估。

2.3 治疗前后 WOMAC 评分及软骨 MRI 评估

18 例 KOA 受试者 haMPCs 注射液治疗前后 WOMAC 评分、CV 及软骨成分多参数成像测量值 (T2 值、T2* 值、T1ρ 值、ADC 值) 结果见表 2。与治疗前相比，除 CV 外，其他各评估指标均较治疗前有显著改善 ($P<0.01$)。

表 2 18 例 KOA 受试者治疗前后各评估指标的变化

Tab 2 Changes in evaluation indexes of 18 KOA subjects before and after treatment

测量指标	治疗前	治疗后	P 值
WOMAC	42.94±16.42	25.00±14.26	0.000
CV / (×10 ³ mm ³)	31.44±5.58	31.52±5.83	0.781
T2 / ms	42.01±4.49	38.86±2.81	0.000
T2* / ms	24.24±2.24	22.48±1.52	0.000
T1ρ / ms	39.73±2.97	37.98±2.61	0.000
ADC / (×10 ⁻³ mm ² /s)	1.56±0.12	1.44±0.12	0.000

2.4 不同剂量组治疗前后 WOMAC 评分及软骨 MRI 评估情况

高、中、低 3 个剂量分组 KOA 受试者 haMPCs 注射液治疗前后 WOMAC 评分、CV 及软骨成分多参数成像测量值结果见表 3。与治疗前相比，治疗 48 周后 3 个剂量组受试者 WOMAC 评分均显著降低 ($P<0.05$)；3 个剂量组治疗前后 CV 均未见显著变化 ($P>0.05$)；治疗前后，除低剂量组外，其他 2 组 T2 值均可见显著性改善 ($P<0.05$)；T2* 值及 T1ρ 值在 3 个剂量组均可见显著性改善 ($P<0.05$)；除高剂量组外，其他 2 组 ADC 值均未见显著变化 ($P>0.05$)。

表 3 不同剂量组治疗前后 WOMAC 评分及软骨 MRI 评估情况

Tab 3 Evaluations of WOMAC score and cartilage MRI before and after treatment in different dose groups

测量指标	高剂量组			中剂量组			低剂量组		
	治疗前	治疗后	P 值	治疗前	治疗后	P 值	治疗前	治疗后	P 值
WOMAC	38.83±12.61	24.33±12.88	0.026	43.83±16.22	23.17±12.89	0.004	46.17±21.48	27.50±18.64	0.049
CV / (×10 ³ mm ³)	27.86±5.69	28.07±5.87	0.599	34.65±4.67	34.87±4.99	0.758	31.82±4.87	31.61±5.24	0.514
T2 / ms	42.12±4.13	39.65±3.37	0.003	40.16±2.60	37.21±1.73	0.003	43.77±6.09	39.73±2.78	0.075
T2* / ms	41.55±2.86	38.82±2.11	0.002	39.30±2.01	37.48±1.93	0.002	38.91±3.24	37.94±3.13	0.038
T1ρ / ms	23.43±2.30	21.77±1.41	0.011	24.22±2.18	22.60±1.77	0.012	25.11±2.32	23.09±1.27	0.012
ADC / (×10 ⁻³ mm ² /s)	1.53±0.10	1.37±0.08	0.026	1.59±0.15	1.52±0.11	0.112	1.56±0.12	1.42±0.14	0.052



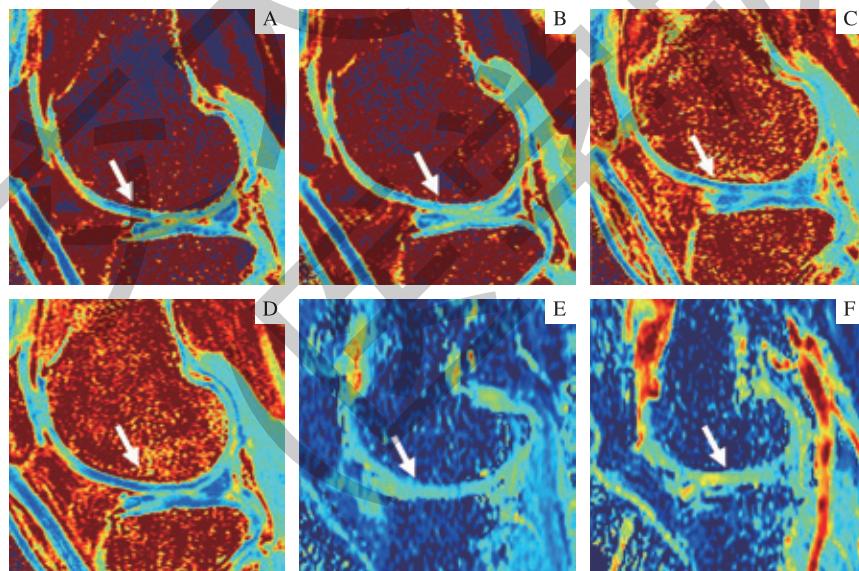
2.5 不同剂量组间治疗前后 WOMAC 评分及软骨 MRI 评估的差异

KOA 受试者治疗前后, 高、中、低剂量组之间 WOMAC 评分、CV 及软骨组织成分多参数成像测量值比见表 4。组间单因素方差分析结果显示, 在治疗后 T1ρ 值在 3 组之间存在差异 ($F=6.310$, $P=0.012$), 而其他评估指标在治疗前后均无显著性差异 ($P>0.05$)。进一步分析显示, T1ρ 值仅在高剂量组与低剂量组之间存在显著差异 ($P=0.004$), 而在高剂量组与中剂量组 ($P=0.129$) 及中剂量组与低剂量组 ($P=0.056$) 之间均不存在显著差异。例如: 58 岁男性受试者接受高剂量治疗前后, 左膝股骨 LF 软骨 T1ρ 值、T2 值、ADC 值均有所下降, 提示固体 ECM 中的水分含量降低或胶原含量增加, 软骨组织有一定程度修复 (图 3)。

表 4 治疗前后不同剂量组膝关节软骨评估指标的单因素分析

Tab 4 Single factor analysis on the evaluation indexes of knee cartilage in different dose groups before and after treatment

测量指标	F 值	P 值
WOMAC		
治疗前	0.477	0.629
治疗后	0.322	0.729
CV		
治疗前	2.680	0.101
治疗后	0.257	0.777
T2		
治疗前	0.656	0.532
治疗后	0.517	0.606
T2*		
治疗前	0.775	0.477
治疗后	0.222	0.804
T1ρ		
治疗前	1.684	0.224
治疗后	6.310	0.012
ADC		
治疗前	0.292	0.750
治疗后	0.956	0.407



注: A、B. T1ρ 伪彩图示左膝 LF 软骨治疗前 (A) 为 36.51 ms, 治疗后 (B) 为 34.30 ms; C、D. T2-mapping 伪彩图示治疗前 (C) 为 37.05 ms, 治疗后 (D) 为 33.79 ms; E、F. ADC 伪彩图示治疗前 (E) 为 $1.19 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, 治疗后 (F) 为 $1.08 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ 。箭头示左膝股骨 LF 软骨

图 3 KOA 受试者治疗前后左膝 LF 软骨 MRI 评估参数伪彩图
Fig 3 Pseudo-color map of MRI assessment on the LF cartilage of a KOA patient's left knee

3 讨论

MRI 具有多方位、多序列、多参数成像以及组织分辨率高等优点, 是目前能较好显示关节软骨的无创性方法。在相关的关节炎治疗研究中, MRI 技术已被用于定量或半

定量监测治疗过程中软骨的变化^[7]。如 Aurelio 等^[8]使用 T2-mapping 技术定量评估了异体 MSCs 治疗的 KOA 受试者关节软骨的质量; Jo 等^[3]通过高分辨率 MRI 研究了接受关节腔内注射 MSCs 的受试者, 对其软骨缺损的大小、深度和再生软骨的信号强度进行定量评估^[3]; Felix 等^[9]通过定量



MRI 技术对膝关节置换效果进行预测。但这些技术在评估异体 haMPCs 修复关节软骨中的价值并不清楚。本研究通过关节 CV 及组织成分多参数 MRI 成像 (T2-mapping、T1ρ-mapping、T2*-mapping 及 DWI)，分析了这些 MRI 成像技术在评估异体 haMPCs 修复 KOA 受试者软骨疗效中的价值。

本研究中，我们发现治疗后临床 WOMAC 评分显著降低，表明受试者接受 haMPCs 治疗后关节软骨得到了一定程度的修复，因而临床症状得到一定程度缓解。受试者膝关节软骨组织成分多参数测量值，包括 T2 值、T1ρ 值、T2* 值和 ADC 值，在治疗前后发生显著性变化，支持了 KOA 受试者 WOMAC 临床评分的改善，同时也表明治疗后受试者的膝关节软骨成分可能存在明显的变化。但在治疗后，各受试者 CV 未发生显著改变。一方面可能是由于样本量小、随访时间短，CV 变化不明显；另一方面也说明在软骨修复过程中，软骨组织成分的变化可能早于 CV 的增加。本研究采用多参数 MRI 软骨成像技术来定量评估关节软骨不同组织成分的变化，反映 haMPCs 对 KOA 受试者关节软骨的修复程度。这些成像技术可作为治疗后效果评估的工具，对进一步在临床中大范围开展采用 haMPCs 进行 KOA 治疗评估有一定指导意义。

关节软骨由 70% ~ 80% 的液体和 20% ~ 30% 的固体 ECM 组成，而 ECM 主要由蛋白聚糖、GAG 和 II 型胶原组成，这些组织成分为水分子提供了一个限制运动的环境。有研究^[10] 表明，ECM 成分含量的降低将导致 T1ρ 值升高；Tsushima 等^[11] 证实二者具有线性相关性。本研究中，3 个剂量组 T1ρ 值治疗后显著降低，表明脂肪干细胞可能使 ECM 含量增加。软骨 T2 值的增加与胶原含量的减少致使含水量增加有关。T2 值主要受软骨含水量和周围胶原排列两方面的影响，软骨细胞外的基质胶原被破坏或软骨细胞内含水量增加可导致 T2 值延长。在正常关节软骨中，T2 值取决于各个层面胶原的密度和结构。在第 48 周时，软骨的 T2 值较治疗前明显降低，表明治疗后 ECM 中胶原含量的增加导致含水量降低。

T1ρ-mapping 成像技术对关节软骨组织成分变化较为敏感。本研究发现，与其他软骨成分 MRI 成像序列相比，T1ρ-mapping 技术可发现治疗前后软骨 T1ρ 值的显著变化，同时发现该值在治疗后高、低剂量组之间的差异，其敏感性优于其他序列，这与相关文献^[12] 报道一致。研究^[13] 表明，T1ρ-mapping 定量成像技术在检测软骨退化早期阶段比定量 T2-mapping 更敏感，这一特性与 T1ρ-mapping 成像的原理有关。其弛豫时间表示自旋锁定时脉冲产生 B1 场强的横向磁化衰减，反映了运动受限水分子与局部大分子（如蛋白聚糖、GAG 和胶原蛋白 II）环

境之间的低频（在 1 kHz 范围内）相互作用。因此，T1ρ-mapping 成像技术具有高度敏感性，可显示 GAG 和胶原特异性变化，进而反映软骨组织的修复程度。

T2*-mapping 成像技术采用梯度回波序列采集数据，与自旋回波序列相比，无需反转脉冲进行相位重聚，因此时间效率更高。软骨 ECM 中受限水分子运动的变化极易引起局部场的不均匀性和磁化率变化，而这些非均匀性和磁化率变化直接体现在 T2* 值的改变中。本研究发现，与基线相比，治疗 48 周后 T2* 值显著降低，表明 T2*-mapping 成像能敏感地反映软骨治疗过程中内部结构的变化，这与一项关于踝关节骨关节炎所致软骨退变研究^[14] 的结论一致。在本研究中，无论是高剂量，还是中、低剂量治疗组，T2*-mapping 成像均能发现软骨 T2* 值的显著性变化，表明不同剂量 haMPCs 对软骨均有一定的修复作用，同时也说明 T2*-mapping 成像能反映软骨细微的结构变化，可用于软骨病变及疗效的评估。

研究^[15] 表明，软骨 ADC 值与蛋白多糖含量相关。本研究中，高剂量组在治疗 48 周后 ADC 值显著降低，表明软骨降解的 ECM 结构得到一定的修复，进而使 ECM 内水分子的扩散率降低。与中、低剂量治疗组相比，高剂量组软骨 ADC 值下降明显。可见，就软骨修复的程度而言，高剂量组优于其他 2 组。

与 CV 半定量方法相比，软骨多参数 MRI 成像对关节软骨组织结构的纵向变化更为敏感，且更易区分不同剂量组治疗后软骨内部结构的修复程度，与一项评估软骨损伤方法的对比研究^[16] 结论一致。CV 评估结果显示，其对关节软骨超微结构的改变敏感性不高，这一潜在弱点在其他研究^[17] 中得到印证。然而，由于样本量的限制，治疗前后 CV 变化结果是否受个体差异的影响不得而知。尽管在整个试验周期内 WOMAC 评分有所降低，但 CV 并未显示出统计学差异。因此，需要进一步扩大样本量及延长随访时间来验证。

本研究还存在一定的局限性。如缺乏相应的组织学证据，因受试者接受 haMPCs 治疗后，基本均能达到改善效果，此时进行有创的关节镜检查很难被受试者接受。由于样本量较少、随访时间较短，有限的临床数据尚不足以提供全面的信息，有待于扩充样本量及延长随访时间来进一步证实本研究结果的准确性。可通过 MRI 技术对膝关节软骨修复组织进行多时间点、多层次的实验室指标评估，以更加真实地模拟关节软骨的解剖结构。

综上所述，软骨多参数 MRI 技术可以反映不同剂量 haMPCs 对 KOA 受试者软骨的形态学及不同成分的修复情况，对受损关节软骨修复效果评估有一定的参考价值。



参·考·文·献

- [1] Dougados M, Leclaire P, van der Heijde D, et al. Response criteria for clinical trials on osteoarthritis of the knee and hip: a report of the osteoarthritis research society international standing committee for clinical trials response criteria initiative[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2000, 8(6): 395-403.
- [2] Sassoli C, Vallone L, Tani A, et al. Combined use of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells (BM-MSCs) and platelet rich plasma (PRP) stimulates proliferation and differentiation of myoblasts *in vitro*: new therapeutic perspectives for skeletal muscle repair/regeneration[J]. *Cell Tissue Res*, 2018, 372(3): 549-570.
- [3] Jo CH, Lee YG, Shin WH, et al. Intra-articular injection of mesenchymal stem cells for the treatment of osteoarthritis of the knee: a proof-of-concept clinical trial[J]. *Stem Cells*, 2014, 32(5): 1254-1266.
- [4] Apprich S, Mamisch TC, Welsch GH, et al. Quantitative T2 mapping of the patella at 3.0 T is sensitive to early cartilage degeneration, but also to loading of the knee[J]. *Eur J Radiol*, 2012, 81(4): 438-443.
- [5] Stahl R, Luke A, Li X, et al. T1 ρ , T2 and focal knee cartilage abnormalities in physically active and sedentary healthy subjects *versus* early OA patients: a 3.0-Tesla MRI study[J]. *Eur Radiol*, 2009, 19(1): 132-143.
- [6] Wang AM, Cao P, Yee A, et al. Detection of extracellular matrix degradation in intervertebral disc degeneration by diffusion magnetic resonance spectroscopy[J]. *Magn Reson Med*, 2015, 73 (5): 1703-1712.
- [7] Stahl R, Jain SK, Lutz J, et al. Osteoarthritis of the knee at 3.0T: comparison of a quantitative and a semi-quantitative score for the assessment of the extent of cartilage lesion and bone marrow edema pattern in a 24-month longitudinal study[J]. *Skeletal Radiol*, 2011, 40(10): 1315-1327.
- [8] Aurelio V, Martín-Ferrero MA, Del Canto F, et al. Treatment of knee osteoarthritis with allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells: randomized controlled trial[J]. *Transplantation*, 2015, 99(8): 1681-1690.
- [9] Felix E, Kwoh CK, Boudreau RM, et al. Quantitative MRI measures of cartilage predict knee replacement: a case-control study from the osteoarthritis initiative[J]. *Ann Rheum Dis*, 2013, 72(5): 707-714.
- [10] Duvvuri U, Kudchodkar S, Reddy R, et al. T1 ρ relaxation can assess longitudinal proteoglycan loss from articular cartilage *in vitro*[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2002, 10(11): 838-844.
- [11] Tsushima H, Okazaki K, Takayama Y, et al. Evaluation of cartilage degradation in arthritis using T1 ρ magnetic resonance imaging mapping[J]. *Rheumatol Int*, 2012, 32: 2867-2875.
- [12] Roemer FW, Crema MD, Trattnig S, et al. Advances in imaging of osteoarthritis and cartilage[J]. *Radiology*, 2011, 260(2): 332-354.
- [13] Zarins ZA, Bolbos RI, Pialat JB, et al. Cartilage and meniscus assessment using T1 ρ and T2 measurements in healthy subjects and patients with osteoarthritis[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2010, 18(11): 1408-1416.
- [14] Krause FG, Klammer G, Benneker LM, et al. Biochemical T2* MR quantification of ankle arthrosis in pes cavovarus[J]. *J Orthop Res*, 2010, 28(12): 1562-1568.
- [15] Cui YZ, Yang XH, Liu PF, et al. Preliminary study on diagnosis of lumbar disc degeneration with magnetic resonance T1 ρ , T2 mapping and DWI quantitative detection technologies[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20 (16): 3344-3350.
- [16] Taylor C, Carballido-Gamio J, Majumdar S, et al. Comparison of quantitative imaging of cartilage for osteoarthritis: T2, T1 ρ -mapping, dGEMRIC, and contrast-enhanced computed tomography[J]. *Magn Reson Imaging*, 2009, 27(6): 779-784.
- [17] Bittersohl B, Miese FR, Hosalkar HS, et al. T2* mapping of acetabular and femoral hip joint cartilage at 3T: a prospective controlled study[J]. *Invest Radiol*, 2012, 47(7): 392-397.

[收稿日期] 2019-05-27

[本文编辑] 吴 洋

