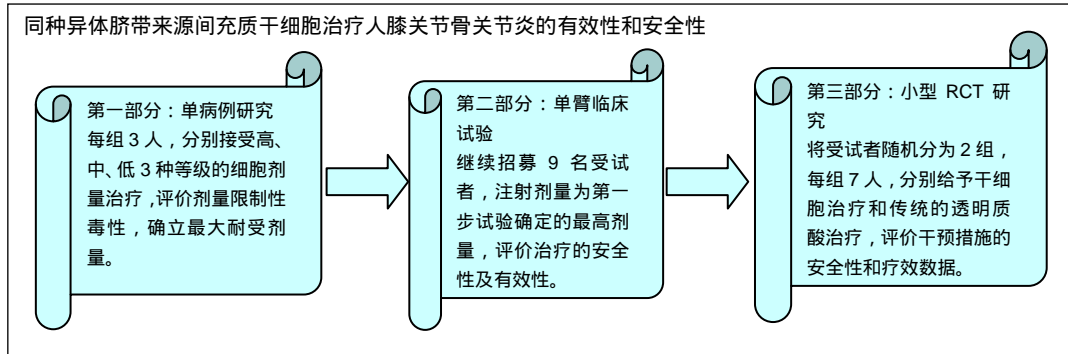


人脐带间充质干细胞治疗膝关节骨性关节炎的临床试验方案

杨子逸, 林剑浩, 邢丹, 王斌, 侯云飞(北京大学人民医院关节病诊疗研究中心, 北京市 100044)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0472 ORCID: 0000-0002-6863-6393(杨子逸)

文章快速阅读:



杨子逸, 男, 1992 年生, 辽宁省抚顺市人, 北京大学人民医院博士研究生在读, 主要从事骨关节炎领域的研究。

通讯作者: 林剑浩, 北京大学人民医院关节病诊疗研究中心, 北京市 100044

中图分类号: R394.2

文献标识码: B

稿件接受: 2017-12-07

文题释义:

膝关节骨性关节炎: 骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种严重危害人类健康的慢性骨关节疾病, 其在关节病中数量最多, 超过类风湿性关节炎、强直性脊柱炎等其他关节炎的总和。在病理水平, 骨关节炎表现为关节软骨的破坏及骨赘的异常增生, 以致临床上出现关节疼痛、活动受限及关节畸形等表现。同时, 骨关节炎是导致青壮年劳动力下降的最主要病因, 造成重大经济负担。

人脐带间充质干细胞: 脐带来源间充质干细胞可以从脐带的多个区域获取, 包括内皮下层、血管周围、华通氏胶(Wharton's jelly)、脐带内层和整个脐带。在再生医学领域, 脐带来源间充质干细胞可能成为继其他成体间充质干细胞、胚胎干细胞以及诱导性多能干细胞(iPSCs)后最具应用前景的干细胞。

摘要

背景: 骨关节炎是一种严重危害人类健康的慢性骨关节疾病。细胞治疗骨关节炎近年来发展较快, 并得到了广泛关注。脐带来源的间充质干细胞治疗骨关节炎既具有其他来源间充质干细胞扩增分化容易, 具有抗炎和招募作用等优势, 又具有细胞年轻化、获得量大、无伦理问题、取材过程无痛苦、高增殖特性、多能分化特性、低免疫源性、无致瘤性等特点, 是目前临床细胞治疗最常用的种子细胞。

目的: 拟利用同种异体脐带来源间充质干细胞治疗人膝关节骨性关节炎, 获得脐带来源间充质干细胞治疗骨关节炎的有效性和安全性数据, 以期为基础研究和临床提供必要的理论基础和临床依据。

方法: 试验在中国北京市, 北京大学人民医院关节病诊疗研究中心完成。在获得受试者的知情同意以及伦理委员会审批后(该试验前两部分均已注册(<https://register.clinicaltrials.gov/>), 编号分别为 NCT03357770 及 NCT03358654, 第三部分需要根据前两部分安全性评价后再行进行), 按照既定的纳入/排除标准招募受试者。临床试验共分为 3 个部分: 第一部分纳入 3 组受试者, 每组 3 人, 分别接受高、中、低 3 种等级的细胞剂量治疗, 3 组受试者在注射后进行随访, 评价剂量限制性毒性, 确立最大耐受剂量。第二部分即单臂临床试验, 继续招募 9 名受试者进行干预试验, 注射剂量为第一步试验确定的最高剂量, 受试者在注射后进行随访, 评价治疗的安全性及有效性。第三部分采用随机对照研究的试验设计, 按照随机化的原则将受试者随机分为 2 组, 每组 7 人, 分别给予干细胞治疗和传统的透明质酸治疗, 在试验期间, 保证评价者盲、受试者盲以及干预者盲。在术后既定时间点进行随访, 评价干预措施的安全性和疗效数据。主要终点是参考 NCI-CTCAE 标准, 出现不明原因的局部及全身症状或死亡终止试验。

预期结果: 参考既往文献报道, 经过该干预措施治疗后随访 1 至 2 年, 受试者膝关节疼痛程度降低, 关节功能评分提高, MRI 检查见软骨缺损面积减小。预计试验时间共 3 年 6 个月。

关键词:

干细胞; 脐带脐血干细胞; 骨关节炎; 脐带来源间充质干细胞; 关节腔内注射; 膝关节; 临床试验

主题词:

干细胞; 骨关节炎; 组织工程

基金资助:

北京大学人民医院研究与发展基金资助课题(RDH2017-05)

缩略语:

间充质干细胞: mesenchymal stem cells, MSCs

Yang Zi-yi, Doctoral candidate, Arthritis Clinic & Research Center, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China

Corresponding author: Lin Jian-hao, Arthritis Clinic & Research Center, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China

Human umbilical cord mesenchymal stem cells in the treatment of knee osteoarthritis: study protocol for a clinical trial

Yang Zi-yi, Lin Jian-hao, Xing Dan, Wang Bin, Hou Yun-fei (Arthritis Clinic & Research Center, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China)

Abstract

BACKGROUND: Osteoarthritis (OA) is a kind of chronic bone and joint disease which seriously endangers human health. Cell therapy for OA has aroused widespread concern and gotten rapid development in recent years. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells (UC-MSCs) have the advantages of easy amplification and differentiation, anti-inflammation and recruiting function such as MSCs from other sources. Furthermore, UC-MSCs are young cells that have large quantity, no ethical problems, high proliferative potential and pluripotent differentiation. UC-MSCs have been the most commonly used seed cells in clinical cell therapy.

OBJECTIVE: To evaluate the efficacy and safety of UC-MSCs in the treatment of human knee OA to provide theoretical and clinical basis for stem cell therapy of OA.

METHODS: The trial will be completed in Arthritis Clinic & Research Center, Beijing, China. Participants will be recruited according to established inclusion/exclusion criteria after obtaining the informed consent and the approval of the Ethics Committee (the first and second parts of the trial have been registered (<https://register.clinicaltrials.gov/>), with the identifier No. NCT03357770 and NCT03358654, and the third part will be carried out according to the conclusion of the first and second parts). The clinical trial will be divided into three parts: in the first part three groups will be recruited. Each group will contain three participants. The three groups of participants will be treated with high, medium and low dose of MSCs, respectively. Participants will be followed up to evaluate dose-limiting toxicity so as to determine the maximum tolerated dose. The second part will be a single-arm clinical trial. Nine participants will be recruited. The injection dose will be the maximum tolerated dose determined in the first part. Participants will be followed up to evaluate the safety and efficacy of the treatment. The third part will be a randomized controlled trial. Participants will be randomly divided into two groups ($n=7$ per group) and treated with MSCs and hyaluronic acid, respectively. During the trial, evaluators, participants and interveners will be unaware of grouping information and interventions. Participants will be followed up at designed time points after treatment to evaluate the safety and efficacy of the intervention. The trial will be terminated if there are unexplained local and systemic symptoms or death according to the NCI-CTCAE criteria.

EXPECTED RESULTS: With reference to the previous literature, the knee pain will be relieved, the score of knee joint function will increase, and the cartilage defect area will decrease on MRI at 1-2 years after the intervention. The trial is expected to spend 3 years and 6 months.

Subject headings: Stem Cells; Osteoarthritis; Tissue Engineering

Funding: the Research and Development Foundation of Peking University People's Hospital, No. RDH2017-05

0 引言 Introduction

骨关节炎(osteoarthritis, OA)是一种严重危害人类健康的慢性骨关节疾病,其在关节病中数量最多,超过类风湿性关节炎、强直性脊柱炎等其他关节炎的总和。在病理水平,骨关节炎表现为关节软骨的破坏及骨赘的异常增生,以致临床上出现关节疼痛、活动受限及关节畸形等表现。同时,骨关节炎是导致青壮年劳动力下降的最主要病因,造成重大经济负担。流行病学研究显示,在世界范围内,65岁以上的人口中,有超过一半为骨关节炎患者^[1]。在中国,随着人口老龄化的进程,骨关节炎的发病也呈现逐年上升的趋势。

本课题组前期在中国开展了大规模关于膝关节骨关节炎的流行病学研究,结果显示在中国症状性膝关节骨关节炎的患病率为8.1%^[2],这一数据高于西方,而且在中国农村地区的患病率高于城市地区^[3]。同时,在中国农村地区,症状性膝关节骨关节炎会增加人群的全因死亡率^[4]。因此,非常有必要以膝关节骨关节炎为切入点,采取有效的治疗手段控制骨关节炎的发展,缓解症状,提高患者的生存质量。目前治疗骨关节炎的手段很多,但尚缺少一种能在病理水平逆转或缓解病程的治疗方法。因此,作者提出如下临床问题:缺乏一种治疗膝关节骨关节炎有效的非手术治疗手段。

近年来,分子生物学、细胞生物学以及精准医学的进步为骨关节炎的治疗提供了新的手段。在再生医学领域,细胞治疗骨关节炎近年来发展较快,并获得广泛关注^[5]。其

中间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)治疗骨关节炎的优势在于具有组织来源广泛、扩增分化容易、分化的细胞具有组织特异性、具有抗炎和招募作用、低成瘤风险、免疫原性低等特点,但目前的临床随机对照试验数量有限,尚需要进一步的临床研究证实其疗效^[6-7]。脐带来源MSCs的优势在于:细胞年轻化、获得量大、无伦理问题、取材过程无痛苦、高增殖特性、多能分化特性、低免疫源性、无致瘤性等^[8-10]。由于脐带来源于外胚层发育阶段,因此脐带来源MSCs具有一定的胚胎细胞的特性^[11-12]。同时,脐带来源MSCs在三向分化前后均可以一直保持免疫豁免的特征^[13]。

在一些临床前研究中,关节腔内注射MSCs对各种关节炎的发生发展具有一定的作用。该结论已经得到大量的动物体内实验验证,包括小鼠^[14]、兔^[15]、大鼠^[16]、猪^[17]、山羊^[18]、狗^[19]、马^[20]、以及迷你猪^[21]。现在,脐带来源MSCs已成为目前临床细胞治疗最常用的种子细胞^[22]。

本课题中使用的脐带来源MSCs由第三方单位提供,已经在体外及体内证实了其安全性,相关的技术或成果包括:确立了干细胞处理全过程无异种血清的干细胞培养方法;建立了干细胞的提取、体外扩增、冻存、复苏的标准化管理体系;确立了临床应用级别的脐带MSCs质控标准(包括从干细胞纯度,表面Marker表达,多能基因就表达;多能功能蛋白表达;分化的多能性;干细胞形态;干细胞活性;细胞周期;基因稳定性;非致瘤性;安全性检测等

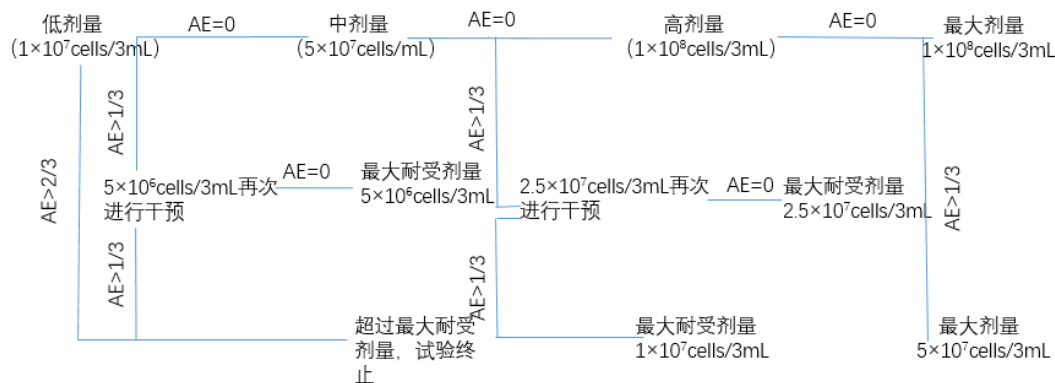


图1 第一部分(单病例研究)流程图
Figure 1 Flow chart of the first part (single case)
图注:通过试验评价剂量限制性毒性,确立最大耐受剂量。AE:不良事件。

多方面);并已经在临床上应用人脐带MSCs,针对不同种疾病,做了大量的临床试验研究,包括脊髓损伤、股骨头坏死,糖尿病,糖尿病足,自身免疫病(GVHD,系统性红斑狼疮),终末期肝硬化等,均取得了满意的疗效。目前尚无关于脐带MSCs关节腔内注射治疗膝关节骨关节炎的研究报道。

本研究的科学问题是:同种异体脐带来源的MSCs治疗膝关节骨性关节炎是否具有很好的安全性和有效性。研究的最终目的是为临床应用脐带来源MSCs提供必要的理论依据和试验数据。

1 试验设计与方法 Study design and methods

1.1 试验目的 利用同种异体脐带来源间充质干细胞关节腔内注射治疗人膝关节骨性关节炎,获得脐带来源间充质干细胞治疗骨关节炎的有效性和安全性数据,以期干细胞治疗骨关节炎提供必要的理论基础和临床依据。

1.2 试验设计类型 第一部分为单病例研究;第二部分为单臂临床试验;第三部分为小型RCT研究。

1.3 试验完成地点 中国,北京市,北京大学人民医院关节病诊疗研究中心。

1.4 受试者选择

1.4.1 纳入标准 同时满足以下几项者方可进入研究:根据国际上公认的诊断标准诊断为膝关节骨性关节炎;K/L评分为2至3级;慢性膝关节源性疼痛;无局部或全身感染;血液学检测及生化检测无明显关节腔穿刺禁忌;受试者及家属对临床试验方案了解并同意参与试验,并签署书面“知情同意书”。

1.4.2 排除标准 下列任何一条为本研究的排除标准:年龄大于75岁或小于18岁,或不具完全民事行为能力;HIV、肝炎病毒或梅毒病毒感染或血清学检验阳性;体质量指数(BMI)大于 30 kg/m^2 ;先天性或获得性膝关节畸形;怀孕或哺乳期妇女;肿瘤患者;免疫缺陷症患者;3个月前有关节腔内药物注射病史;目前仍在参加其他临床试验的患者;其他研究者认为不适合入组的患者如患有其他伴随疾病;拒绝签署知情同意书或拒绝参加本临床试验的受试者。

1.5 招募 由研究者开展本试验相关的宣传教育,发布招募标准及电话、e-mail、微信等项目负责人的联系方式,招募受试者,向受试者介绍利弊,征得同意后签署知情书,入组后再详细按照纳入排除标准进行筛查。

1.6 干预方法

1.6.1 研究阶段

(1)筛选期,完成筛选检查,主要包括:签署知情同意书;人口统计学资料,疾病史、手术史及骨关节炎治疗史资料收集;核查纳入排除标准;体格检查记录;血常规(红细胞、白细胞、血小板计数,中性粒细胞、单核细胞、淋巴细胞百分比及血红蛋白);尿常规(蛋白、糖、红细胞、白细胞、pH值);血液生化(肝功能、肾功能、电解质);凝血参数;感染指标(C-反应蛋白、血沉);HIV抗体;淋巴细胞亚群检查;心电图;胸片;膝关节CT、B超或MRI;完成以下评分量表:目测类比(VAS)评分,WOMAC评分,Lequesne指数,SF-12量表;光盘刻录,影像学资料保存。

(2)第一部分(单病例研究):根据1996年9th NCI/EORTC New Drug Development Symposium in Amsterdam的指南,通过纳入3组受试者,分别接受高、中、低3种等级的细胞剂量治疗,评价剂量限制性毒性(dose-limiting toxicity,DLT),确立最大耐受剂量(maximum tolerated dose,MTD)。

剂量和细胞浓度的选择基于既往的文献报道^[23]。从低剂量注射开始,低剂量为 1×10^7 cells/3 mL,中剂量为 5×10^7 cells/3 mL,高剂量为 1×10^8 cells/3 mL。注射后进行随访,根据不良反应发生情况决定进入下一阶段试验。3组受试者在注射后1,2,3,6个月进行随访。不良反应发生根据《常见不良反应事件评价标准(NCI-CTCAE)》,将出现GRADE评分大于3分的下述并发症视为DLT发生,包括:过敏反应、注射部位局部反应、注射部位局部感染、纤维化改变、肌肉或骨骼发育不全。具体试验流程见图1。该部分试验已在clinicaltrials注册(<https://clinicaltrials.gov/>),编号为NCT03357770。

(3)第二部分(单臂临床试验):继续招募9名受试者进行干预试验,注射剂量为第一步试验确定的最高剂量。受试

者在注射后1, 2, 3, 6个月进行随访。术前进行健康宣教, 重点强调膝关节的运动范围以及如何进行股四头肌的力量训练。术后第1天即开始膝关节的屈伸运动以及股四头肌的力量训练, 建议患肢不承重8周, 8周后在拐杖辅助下逐渐进行负重4周, 共12周后可正常负重。纳入后随访过程中进行安全性及有效性评价。该部分试验已在clinicaltrials注册(<https://clinicaltrials.gov/>), 编号为NCT03358654。

(4)第三部分(小型RCT): 前两部分试验结果理想后开展, 该部分采用随机对照研究的实验设计, 即根据既定的纳入标准/排除标准纳入目标人群, 按照随机化的原则, 采用随机数字表法将受试者随机分为两组, 每组按照样本量估算结果为7人, 分别给予脐带来源的MSCs治疗和传统的透明质酸治疗。在试验期间, 做到随机方案的分配隐藏, 保证评价者盲、受试者盲以及干预者盲。在术后3, 6, 12, 24个月4个时间点进行随访, 评价受试者的疼痛和功能变化, 进行安全性及有效性评价。

1.6.2 干细胞制剂的使用方式、剂量、时间及疗程

干细胞制剂: 人脐带来源MSCs。

使用方式: 关节腔内注射。

剂量: 将既定浓度的细胞(1×10^7 cells, 5×10^7 cells, 1×10^8 cells)混匀在3 mL生理盐水中。

疗程: 关节腔内一次性注射。

1.6.3 随访方法及评价指标的选择

(1)试验第一部分在注射后1, 2, 3, 6个月进行随访, 随访内容: 体格检查, 生命体征。研究第二部分在注射后1, 2, 3, 6个月进行随访, 随访内容: 体格检查, 生命体征, 血常规, 血液生化及电解质, 淋巴细胞亚群, 膝关节MRI, VAS评分, WOMAC评分, Lequesne指数, SF-12量表。研究第三部分在注射后3, 6, 12, 24个月4个时间点进行随访, 随访内容: 体格检查, 生命体征, 血常规, 血液生化及电解质, 淋巴细胞亚群, 膝关节MRI, VAS评分, WOMAC评分, Lequesne指数, SF-12量表。有条件或必要时可延长随访时间。

(2)实施办法:

随访的结果记录在“病历报告表(CRF)”中。

客观性的结局指标如MRI评估结果等, 由2名评价者独立进行评价, 并分别记录。结果存在差异由双方协商解决, 或请教第3方进行评价。

主观性的结局指标如VAS量表等, 由受试者自行填写相应量表后, 粘贴在病历记录中。

研究中涉及评价指标均采用国际公认的评分量表的中文翻译版, 粘贴在病历记录表中。

对于失访病例, 要详细记录失访的时间及原因等。

1.7 随机化方法 试验第三部分采用随机数字表法, 通过软件完成, 形成随机数字表。由协调员随机为每名入组的受试者分配一个随机号码。入组者接受计算机1:1随机分配至干细胞治疗组以及透明质酸治疗组。一旦随机号码已

经分配给某位受试者, 此号码不能再次被重复分配, 未能完成整个研究的受试者也不能由其他受试者替换。采用不透光信封的方式对随机方案进行隐藏。

1.8 盲法 试验第三部分随机对照研究采用三盲。受试者盲, 干预者盲, 评价者盲。受试者接受随机分组, 由协调员协助完成。领取随机号码后, 检验标本以及注射药物均以研究编号数字加以标识而非受试者姓名, 注射干细胞或透明质酸由电脑系统随机决定, 不会透露给受试者。受试者分组不会告知干预者, 每次关节腔注射药物由助手准备, 注射器用黑布遮挡, 术者及受试者将不会得知注射的是哪种药物。评价由第三方完成, 分组情况不会透露给评价者。

1.9 不良事件的记录要求和严重不良事件的报告方法、处理措施 在试验开始前制定详细规范的《干细胞临床研究风险管理机制和损害事件处理措施SOP》。所有接受关节腔注射受试者都将成为安全性分析有效人群。研究者将如实记录受试者的副作用及不良事件, 并分析原因。

不良事件定义为在治疗及随访期间发生的不利和非预期的医疗事件, 包括: 出现不明原因的发热、晕厥、大汗、呕吐等全身症状; 出现不明原因胃肠道功能失调, 食欲不振、恶心、腹胀、便秘或腹泻等; 出现不明原因头痛、疲倦、不明原因的肌肉痛、不适感以及睡眠的改变等; 出现不明原因焦虑、不安、烦躁等精神症状; 出现不明原因视觉障碍、肌肉震颤、排尿困难等; 局部出现皮肤斑丘疹、红斑等局部表现; 局部出现疼痛加重或活动范围减少等; 出现急性中毒症状或死亡。

严重不良事件(SAEs)定义为: 试验过程中发生需住院治疗、延长住院时间、伤残、影响工作能力、危及生命或死亡、导致先天畸形等事件

必须记录不良事件的严重程度并根据CTCAE标准进行分级, 并根据以下定义评估其与治疗的关系。无关: 有证据表明, 导致不良事件的原因不是关节腔注射治疗(如既往状况, 潜在疾病, 并发疾病); 有关: 不良事件与关节腔注射药物有时间关联且已知或怀疑关节腔注射药物可以引发该不良事件; 无法评估。

不良事件要求被记录在CRF相关部分中, 需要描述: 开始及结束日期; 不良事件结果; 是否导致受试者退出研究; 是否与关节腔注射药物有关的评估; 是否属于严重不良事件。

1.10 研究治疗中断/退出 受试者可在任何时间终止研究治疗及评估, 具体情况为:

(1)在不影响进一步治疗的前提下, 受试者任何时间自愿退出本研究。

(2)出现以下不良事件(主要参考NCI-CTCAE标准): 出现不明原因的发热、晕厥、大汗、呕吐等全身症状; 出现不明原因胃肠道功能失调, 食欲不振、恶心、腹胀、便秘或腹泻等; 出现不明原因头痛、疲倦、不明原因的肌肉痛、不适感以及睡眠的改变等; 出现不明原因焦虑、

不安、烦躁等精神症状；出现不明原因视觉障碍、肌肉震颤、排尿困难等；局部出现皮肤斑丘疹、红斑等局部表现；局部出现疼痛加重或活动范围减少等；出现急性中毒症状或死亡。

(3)研究者认为受试者存在严重违反研究方案的情况或入组错误。

(4)研究者认为该研究方案存在安全问题。

(5)受试者失访。

如果受试者提前中止研究治疗，必须在病历报告表(CRF)中记录中止的原因，但要随访到整个研究结束，并填写研究表格。

1.11 研究终点

1.11.1 一级终点 在治疗至随访结束前受试者出现治疗相关的严重不良事件。

1.11.2 二级终点 至随访结束，与基线值相比，受试者以下几项中的一项或以上出现变化(说明有效性)：

VAS评分；

WOMAC评分；

Lequesne指数评分；

SF-12量表评分；

膝关节MRI评价软骨缺损面积。

1.12 统计学考虑

1.12.1 样本量的计算 本研究将使用假设检验公式进行样本含量的计算，目前暂无脐带MSCs治疗人体骨关节炎的文献报道，根据骨髓来源MSCs治疗骨关节炎的文献，以WOMAC评分为标准，预计干细胞治疗改善率为0.42，对照组(透明质酸)为0.10，标准差为0.196^[24]，取 $\alpha=0.05$ ， $1-\beta=0.80$ ，而且都是双侧检验。算得样本量为12，加上20%的失访率，估计需要受试者14例。

1.12.2 数据的统计方法 采用SPSS 19.0统计学软件对数据进行统计学处理。显著性水平 α 定为0.05， $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

需要统计：膝关节MRI得到的软骨缺损面积，VAS评分，WOMAC评分，Lequesne指数，SF-12量表评分。对于连续性变量，用均数 \pm 标准差表示，组间差异采用student-*t*检验。对于分类变量，用率表示，组间差异采用方差分析。对于失访数据将采用意向性分析(ITT)，将不会夸大干预措施的治疗效果。

1.13 数据管理 数据录入采用双录入方式进行，并由第三方公司完成。统计学方法的选择和处理方式需要按照既定的统计学处理计划书进行，并由第三方完成。

1.14 临床试验的伦理问题及知情同意 每一版研究方案及知情同意书必须由伦理委员会批准或予以肯定的书面意见。后期在试验进行中任何对研究计划的修改以及每一版研究计划书也必须由伦理委员会批准。本研究将严格遵照《赫尔辛基宣言》中的伦理原则执行，以保护受试者利益和有利于受试者的原则。在研究前将对受试者充分知情同

意，并告知受试者可以在任意时间自愿退出。知情同意书一式两份，研究者与受试者各保留一份。

1.15 研究质量控制 研究前对所有参加的研究人员进行统一培训，建立质量控制标准和方法SOP。研究者保留研究过程中全面准确的记录，并建库储存。研究者负责所有人员接受相关培训，并将研究进度及新相关信息告知相关人员。组建研究小组负责协调整个工作，定期公布研究进度，撰写研究报告，解决发现的问题。

受试者入组及分配由专门的协调员负责完成，每次关节腔注射准备工作有专门的助手完成，专人审核研究表格，及时解决疑问。建立监测委员会培训监察员定期监查，并允许试验相关审核、IEC审核及稽查和视察，但要保证受试者隐私。数据处理及分析由受过培训的第三方完成，监测委员会监督。

1.16 试验结果发表约定 研究结束后，由主要研究者编写研究总结报告，研究报告中将包括研究目的描述、研究中所使用的方法以及结果和结论，并投稿。

2 结果 Results

本课题组的合作方对脐带来源MSCs做了大量的基础研究，并获得了满意的结果。本试验课题尚在筹备阶段。

3 讨论 Discussion

基于现有的文献分析，脐血来源的MSCs作为一种成体MSCs具有一定的安全性和定向分化特性。与应用同种异体骨髓来源MSCs治疗类似，采用同种异体的脐带来源MSCs治疗膝关节骨关节炎从理论上也可能获得满意的临床疗效。因此，本课题组在前期细胞实验和动物体内实验的基础上提出了临床试验研究假设，并在尊重伦理原则的基础上开始三部分的临床研究，首先通过小样本的研究获得安全性数据，再次通过单臂临床研究再次评价安全性和有效性数据，最后通过小样本的RCT评价干预措施与传统药物在有效性和安全性方面的差异。本文通过介绍异体脐带来源MSCs治疗人膝关节骨关节炎的临床试验研究设计方案，以期获得脐带来源MSCs治疗骨关节炎的有效性和安全性数据，最终为临床应用脐带来源MSCs提供必要的理论依据和试验数据。

作者贡献：杨子逸进行试验设计，杨子逸、邢丹、王斌进行手术；邢丹、王斌进行评估；杨子逸、邢丹、王斌、侯云飞进行资料收集；杨子逸成文；林剑浩审校。

经费支持：文章接受了“北京大学人民医院研究与发展基金资助课题(RDH2017-05)”的资助。所有作者声明，经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突：所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题：该试验前两部分均在 *clinicaltrials* 注册(<https://clinicaltrials.gov/>)，编号分别为 NCT03357770 及 NCT03358654，第三部分需要根据前两部分安全性评价后再进行。研究的实施符合《赫尔辛基宣言》和医院对人体研究的相关伦理要求。文章的撰写与

编辑修改后文章遵守了《临床试验方案规范指南》(SPIRIT 指南); 参与实验的患病个体及其家属自愿参加, 均对实验过程完全知情同意, 在充分了解本治疗方案的前提下签署“知情同意书”。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 3.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] Bijlsma JW, Berenbaum F, Lafeber FP. Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice. *Lancet*. 2011; 377(9783): 2115-2126.
- [2] Tang X, Wang S, Zhan S, et al. The Prevalence of Symptomatic Knee Osteoarthritis in China: Results From the China Health and Retirement Longitudinal Study. *Arthritis Rheumatol*. 2016; 68(3):648-653.
- [3] Kang X, Fransen M, Zhang Y, et al. The high prevalence of knee osteoarthritis in a rural Chinese population: the Wuchuan osteoarthritis study. *Arthritis Rheum*. 2009;61(5): 641-647.
- [4] Liu Q, Niu J, Huang J, et al. Knee osteoarthritis and all-cause mortality: the Wuchuan Osteoarthritis Study. *Osteoarthritis Cartilage*. 2015;23(7):1154-1157.
- [5] Burke J, Hunter M, Kolhe R, et al. Therapeutic potential of mesenchymal stem cell based therapy for osteoarthritis. *Clin Transl Med*. 2016;5(1):27.
- [6] Davatchi F, Abdollahi BS, Mohyeddin M, et al. Mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. Preliminary report of four patients. *Int J Rheum Dis*. 2011;14(2):211-215.
- [7] Bianco P, Cao X, Frenette PS, et al. The meaning, the sense and the significance: translating the science of mesenchymal stem cells into medicine. *Nat Med*. 2013;19(1):35-42.
- [8] Ding DC, Chou HL, Chang YH, et al. Characterization of HLA-G and Related Immunosuppressive Effects in Human Umbilical Cord Stroma-Derived Stem Cells. *Cell Transplant*. 2016;25(2):217-228.
- [9] Ding DC, Shyu WC, Chiang MF, et al. Enhancement of neuroplasticity through upregulation of beta1-integrin in human umbilical cord-derived stromal cell implanted stroke model. *Neurobiol Dis*. 2007;27(3):339-353.
- [10] Wang D, Chen K, Du WT, et al. CD14+ monocytes promote the immunosuppressive effect of human umbilical cord matrix stem cells. *Exp Cell Res*. 2010;316(15):2414-2423.
- [11] Fong CY, Chak LL, Biswas A, et al. Human Wharton's jelly stem cells have unique transcriptome profiles compared to human embryonic stem cells and other mesenchymal stem cells. *Stem Cell Rev*. 2011;7(1): 1-16.
- [12] Fong CY, Subramanian A, Gauthaman K, et al. Human umbilical cord Wharton's jelly stem cells undergo enhanced chondrogenic differentiation when grown on nanofibrous scaffolds and in a sequential two-stage culture medium environment. *Stem Cell Rev*. 2012;8(1):195-209.
- [13] La Rocca G, Lo IM, Corsello T, et al. Human Wharton's jelly mesenchymal stem cells maintain the expression of key immunomodulatory molecules when subjected to osteogenic, adipogenic and chondrogenic differentiation in vitro: new perspectives for cellular therapy. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2013;8(1):100-113.
- [14] Diekman BO, Wu CL, Louer CR, et al. Intra-articular delivery of purified mesenchymal stem cells from C57BL/6 or MRL/MpJ superhealer mice prevents posttraumatic arthritis. *Cell Transplant*. 2013;22(8):1395-1408.
- [15] ter HM, Schelbergen R, Blattes R, et al. Antiinflammatory and chondroprotective effects of intraarticular injection of adipose-derived stem cells in experimental osteoarthritis. *Arthritis Rheum*. 2012;64(11):3604-3613.
- [16] Horie M, Choi H, Lee RH, et al. Intra-articular injection of human mesenchymal stem cells (MSCs) promote rat meniscal regeneration by being activated to express Indian hedgehog that enhances expression of type II collagen. *Osteoarthritis Cartilage*. 2012;20(10):1197-1207.
- [17] Sato M, Uchida K, Nakajima H, et al. Direct transplantation of mesenchymal stem cells into the knee joints of Hartley strain guinea pigs with spontaneous osteoarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2012; 14(1): R31.
- [18] Al FH, Nor HBM, Chen HC, et al. The potential of intra-articular injection of chondrogenic-induced bone marrow stem cells to retard the progression of osteoarthritis in a sheep model. *Exp Gerontol*. 2012;47(6):458-464.
- [19] Guercio A, Di MP, Casella S, et al. Production of canine mesenchymal stem cells from adipose tissue and their application in dogs with chronic osteoarthritis of the humeroradial joints. *Cell Biol Int*. 2012;36(2):189-194.
- [20] Frisbie DD, Kisiday JD, Kawcak CE, et al. Evaluation of adipose-derived stromal vascular fraction or bone marrow-derived mesenchymal stem cells for treatment of osteoarthritis. *J Orthop Res*. 2009;27(12):1675-1680.
- [21] Ha CW, Park YB, Chung JY, et al. Cartilage Repair Using Composites of Human Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells and Hyaluronic Acid Hydrogel in a Minipig Model. *Stem Cells Transl Med*. 2015;4(9):1044-1051.
- [22] Uth K, Trifonov D. Stem cell application for osteoarthritis in the knee joint: A minireview. *World J Stem Cells*. 2014;6(5): 629-636.
- [23] 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. *Stem Cells*. 2014; 32(5): 1254-1266.
- [24] Vega A, Martín-Ferrero MA, Del Canto F, et al. Treatment of Knee Osteoarthritis With Allogeneic Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells: A Randomized Controlled Trial. *Transplantation*. 2015; 99(8):1681-1690.