

## 关节软骨愈合和再生研究的现代进展(三)

李德达<sup>1</sup> 李世民<sup>1</sup> 尚天裕<sup>2</sup>

(1. 天津医院,天津 300211; 2. 中国中医研究院骨伤科研究所,北京 100700)

### 3.2 关节面生物学重建治疗

关节面生物学重建技术,又可分为使用单软骨原细胞的细胞移植与使用全组织的组织移植两种。由软骨基质游离的软骨细胞移植到培养皿上,使细胞数量增加,这就可以以少量组织达到软骨形成成为可能。本方法成功的关键是在移植后,将移植细胞保持固定在关节面的损伤部位。其难度决定于关节软骨缺损的大小,通常关节软骨大缺损或全关节面缺损大于小的边界清楚的关节软骨缺损。对于全组织移植固定较容易,因为用全组织移植时,可重建整个关节的关节软骨缺损的大体形状和大小。在这种情况下,移植组织可以缝线固定到软骨下骨保留在关节面上,再将缝线经邻近关节面的隧道拉出。

#### 3.2.1 组织移植

(1) 骨膜关节成形术(periosteal arthroplasty)动物实验证明:使用自身骨膜移植(autogenous periosteal graft)重新修复兔膝关节骨缺损的关节面,结果以明显的透明软骨愈合,该透明软骨中 型胶原(collagen)超过 90%以上,水分、蛋白多糖(proteoglycan)、软骨素(chondroitin)和硫酸角质蛋白(keyatan sulfate)含量正常(O'Driscoll SW, et al, 1986; 1988)。在术后不断地进行关节被动运动(passive motion)可使愈合组织数量增加( $P < 0.001$ )。相反,于老龄动物或当骨膜移植的新生层面(the cambium layer)对着软骨下骨时,进行关节被动运动则妨碍软骨愈合组织增长。手术后采用连续不断被动运动治疗关节软骨缺损再生组织结构数量和性质,1年后和4周时相比没有明显退变发生( $P > 0.1$ ),只有极轻微的早期退变,软骨下骨完全恢复。软骨下骨恢复极为重要,因为关节软骨即使再生恢复完整,在软骨下骨异常时的生物力学作用下,也可导致退变(Radin EL, et al, 1978)。Curtin 等动物实验观察发现,兔骨膜移植修复关节软骨缺损,修复软骨超微结构表现正常,不过结果不尽一致(Curtin WA, et al, 1992)<sup>[1-6]</sup>。

使用骨膜进行人的生物学关节面重建(resurfacing)的关节成形术已经超过 10 年以上。Niedermann 等<sup>[7]</sup>报告膝关节 4 例剥脱性骨软骨炎(osteochondritis dissecans)和 1 例缺血性坏死(avascular necrosis)患者,全部病膝在骨膜关节面重建成形术后随访 1 年,术后结果满意。4 例患者关节疼痛均明显缓解,4 例中仅有 1 例还有轻微钝痛。手术后 12 个月行关节镜检查发现,可在修复关节面上触及到坚硬的软骨组织。Hoikka 等<sup>[3]</sup>用骨膜移植重建 13 个膝骨关节面软骨缺损的病人(Hoikka VE, et al, 1994);根据 Freeman 等评分方法(scoring system)(Freeman MAR, et al, 1977),优 8 例,良 4 例,差 1 例。

(2) 软骨膜关节成形术(perichondrial arthroplasty):人的

关节面软骨缺损用软骨膜关节重建修复。Homminga 等<sup>[8]</sup>报告使用软骨膜移植治疗关节软骨缺损病人 30 例,其中 25 例移植软骨膜取自于肋骨。30 例软骨膜移植术后,经反复的关节镜检查,28 例显示关节软骨缺损已被类似软骨组织所充填。根据骨科医院膝关节成形术功能评分,功能改善,平均由术前的 73 分提高到术后的 90 分(作者注:膝关节成形术功能评分参考:Ranawat CS, et al, Duo-condyalar knee arthroplasty, Hospital for special surgery design Clin. Orthop, 120: 76-82, 1976)。不过随访时间低于 2 年的病人 11 例,但在 14 例不少于 2 年的病人膝关节术后评分表明没有向不良方向发展。

Vachon 等<sup>[9]</sup>对使用骨膜移植修复关节软骨缺损和使用软骨膜修复关节软骨缺损的关节软骨形成进行比较(Vachon A, et al, 1989)。经观察发现,关节内游离骨膜移植(free intrarticular periosteum grafts)比自体软骨膜移植(perichondrial autogenous grafts)软骨形成更易出现( $P < 0.05$ ),形成数量更大。骨膜移植约 5/6 可见软骨形成,而软骨膜移植仅 1/6 看到软骨形成。骨膜移植时骨膜取材之大足够使用,临床上常用于较小关节(如肘关节)的全关节面缺损的重建(resurface)。骨膜移植重建关节面缺损,在膝关节可切取关节缺损邻近骨膜进行,致伤小,从而避免了采用软骨膜移植时需在胸壁上作第二个切口来获取移植骨膜再次损伤的烦琐缺点。

Coutts 和 Amiel 等<sup>[10]</sup>报告关于使用软骨膜移植进行软骨组织形成重建兔膝关节面缺损的大量研究资料,他们主要着重观察研究软骨膜移植方法的技术问题(Coust RD, et al, 1984; 1991; 1992; Amiel D, et al, 1985; 1988; Billing SJr, et al, 1990; Chu CR, et al, 1995; Von Royen BJ, et al, 1991; Kwan MK, et al, 1989)。在一项 100 只兔子进行软骨膜移植修复关节面缺损,最长观察达 1 年的长期研究之后,通过资料分析认为除 37%之外,可达到“生物学上可接受的”(biologically acceptable)软骨膜移植。一些作者把“生物学上可接受的”关节面缺损修复,定义为“肉眼可见缺损关节面充满紧密、牢固的软骨组织”。在此之后,研究使用骨膜搁到可生物降解的多乳酸架(a biodegradable polylactic acid scaffold)或可吸收聚合物(polymers)上散布软骨细胞,起到传递和保护修复缺损软骨细胞的作用,促进软骨愈合。因此,生物学关节面再造,骨膜移植的操作方法在组织数量以及软骨形成能力方面都优于软骨膜移植<sup>[11]</sup>。

3.2.2 细胞移植 细胞移植可分为:使用完全分化软骨细胞(fully differentiated chondrocytes)与使用未分化软骨细胞的前身细胞(undifferentiated chondrocyte precursor cells)两种。许多研究者选用软骨细胞做为软骨再生的移植细胞(Barone L, et

al, 1995; Bentley G and Greer RB, 1971; Brittberg M, et al, 1994; Freed LE, et al, 1993; Grand DA, et al, 1987; 1988; Helbing G, 1992; Hendrickson DA, et al, 1994; 等等)。另有一些研究者好使用未分化(称不完全分化可能更好)的多功能细胞(pluripotential cells)(常称为间质干细胞 mesenchymal stem cells)(Bruder SP, et al, 1994; Caplan AI, et al, 1993; Fitzsimmons JS and O'Driscoll SW, 1998; Gallay SH, et al, 1994; Haynesworth SE, et al, 1992; Iwasaki M, et al, 1993; 等等)。“多能性”(multi-potentiality)的概念在文献中已完全被应用(Grigoriadis AE, et al, 1988; Poliard A, et al, 1995)。虽然骨髓、骨膜或软骨膜可成为多功能性干细胞来源,但软骨膜细胞就是多能性细胞还是它们有产生骨的功能尚不清楚(Chu CR, et al, 1995)。以上两种方法均有一定的优缺点,从治疗的不同角度来说表现的比较明显。譬如,使用完全分化软骨细胞移植,此时如果情况适当分化软骨细胞即可产生形成软骨,因此对关节面缺损仅限于关节软骨时采用分化软骨细胞移植则是理想的。但是许多关节面损伤缺损可同时累及关节面软骨下骨,在这种情况下选用分化软骨细胞移植就不如选用移植细胞既能分化产生软骨又能分化形成骨的未分化软骨前身细胞或组织更为适当。任何用于产生或促进关节面缺损骨愈合的方法,恢复正常软骨下骨都是必不可少的。软骨细胞不具有诱导骨愈合的作用,而骨膜或骨髓的细胞(stem cells)却有再生软骨细胞和软骨下骨的能力(O'Driscoll SW, et al, 1986; 1988)。

一种特殊的情况是关节面出现巨大和深在的缺损。这时,由于关节面缺损的关节面软骨不能简单修复,所以关节面结构恢复必须对结构进行矫正(包括关节面的软骨下骨)。常用的方法是先恢复软骨下骨,然后再生关节软骨。

以下将就自体软骨细胞移植的进展情况作一介绍:

由自体软骨细胞移植(transplantation of autogenous chondrocyte)来修复重制有可能使关节软骨缺损上的修复更好的再生和愈合(Hunziker EB and Kapfinger E, 1998)。

Brittberg 等<sup>[11]</sup>报告了人的自体软骨细胞移植修复关节软骨缺损的治疗观察结果。共计 23 例,年龄范围 14~48 岁,也以移植骨膜瓣缝合到膝关节缺损的关节软骨面上进行固定。取少量软骨细胞(为早先关节镜检查时取得的软骨活标本,游离、培养 2~3 周后生长出的软骨细胞)注入在移植骨膜瓣的下面。然后,进行开放性截骨术,做为第二阶段的治疗。术后观察最长 66 个月,根据疼痛、肿胀和交锁的主观评分法(subjective scoring system),统计结果:16 例髌中的 14 例、7 例髌骨中的 2 例临床疗效为优良。于术后 12~26 月进行关节镜检查关节软骨缺损时,发现关节软骨缺损全部愈合,不过关节软骨缺损边缘仍能看见。对 13 个术后病例的活检标本进行观察,已发现组织学上的软骨形成,约占活检标本的 57%。

关于软骨细胞移植术中骨膜移植的促进作用仍有争论。一些研究者比较了软骨细胞移植和单纯骨膜移植,但在研究中骨膜移植的方法有所不同。无软骨细胞移植仅骨膜移植时,骨膜的生长面应朝向关节,关节缺损有足够深度(直到产生基质软骨细胞得到保护)以防术后第 1~2 周时新生的修复组织遭到相对关节面的触碰(Moran ME, et al, 1992; O'Driscoll SW, et al, 1986)。需要有空间容纳新生长的组织,否则新生

长组织高起来在邻近关节软骨之上将被所对关节面挤碎。在研究软骨细胞移植(同时行骨膜移植)时,骨膜的生发层(cambium layer)朝下,直接置放在软骨下骨面上(Grande DA, et al, 1989; Peterson LV, 1993)。关节面缺损太浅,如单行骨膜移植,则不能再生软骨。Fitzsimmons 和 Shawn 等<sup>[12]</sup>研究者都提出,移植骨膜的切取和加工是形成软骨组织能力极其重要的关键因素。如果没有保留移植骨膜的生发层,手术就将失败。以上这些实验研究,被认为是利用自体软骨细胞移植修复关节软骨缺损技术,在尚未出现其他重大科技成果之前的开拓性观察。

由 Takahashi 等<sup>[13]</sup>报告的自体软骨细胞移植技术明显不同,他使用成熟兔髌骨骨折的早期骨痂来诱导关节软骨缺损愈合,取得良好效果。切取髌骨进行截骨部位的邻近骨痂和骨片移植到关节面缺损处,恢复软骨下骨和覆盖软骨。虽然这种手术方法,临床使用具有一个明显的缺点,如需要 2 次髌骨手术,1 次关节手术,不过该方法的提出却揭示它本身的生物学意义。

### 参考文献

- [1] Radin EJ, Ehrlich MC, Chernack R, et al. Effect of repetitive impulsive loading on the knee joints of rabbits. *Clin Orthop*, 1978, 131: 288-293.
- [2] Fujii K, Sai S, Tanak T, et al. Biological resurfacing of full-thickness defects in patellar cartilage utilizing autogenous periosteal grafts. Read at the Combined Meeting of the Orthopaedic Research Societies of USA, Japan, and Canada, Banff, Alberta, Canada, 1991. 27.
- [3] Hoikka VE, Jaroma HJ, Ritsila VA. Reconstruction of the patellar articulation with periosteal grafts. 4-year follow-up of 13 cases. *Acta Prthop. Scandinavica*, 1990, 61: 36-39.
- [4] 张韬. 游离骨膜移植修复关节软骨缺损的因素实验研究. *中华骨科杂志*, 1995, 15(9): 620.
- [5] 杨贵勇, 卢世壁. 自体骨膜游离移植修复关节软骨缺损实验研究与临床应用. *中华外科杂志*, 1990, 28(11): 730.
- [6] 韩一笑, 陆裕朴. 自体骨膜和软骨移植修复关节面软骨缺损的实验比较. *中华骨科杂志*, 1991, 11(1): 35.
- [7] Niedermann B, Boe S, Lauritzen J, et al. Grafted periosteal grafts in the knee. *Acta Orthop Scandinavica*, 1985, 56: 457-460.
- [8] Homminga GN, Bulstra SK, Bouwmeester PSM, et al. Perichondral grafting for cartilage lesions of the knee. *J Bone and Joint Surg (Br)*, 1990, 72(6): 1003-1007.
- [9] Vachon A, McIlwraith CW, Trotter GW, et al. Neochondrogenesis in free intra-articular, periosteal and perichondral autografts in horses. *Am J Vet Res*, 1989, 50: 1787-1794.
- [10] Coutts RD, Amiel D, Woo YK, et al. Technical aspects of perichondral grafting in the rabbit. *European Surg Res*, 1984, 16: 322-328.
- [11] Brittberg MA, Minas T, Hsu H-P, et al. Effect of cultured autologous chondrocytes on repair of chondral defects in a canine model. *J Bone and Joint Surg (Am)*, 1997, 79: 1439-1451.
- [12] Fitzsimmons JS, O'Driscoll SW. Technical experience is important in harvesting periosteum for chondrogenesis. *Trans Orthop Res Soc*, 1998, 23: 914.
- [13] Takahashi S, Oka M, Kotoura Y, et al. Autogenous callo-osseous grafts for the repair of osteochondral defects. *J Bone and Joint Surg (Br)*, 1995, 77(2): 194-204.

(收稿:2000-12-10 修回:2001-02-10 编辑:李为农 连智华)