

关节软骨愈合和再生研究的现代进展(二)

李德达¹ 李世民¹ 尚天裕²

(1. 天津医院, 天津 300211; 2. 中国中医研究院, 北京)

3 关节面损伤的恢复

根据关节面(包括关节软骨和软骨下骨)损伤的生物学恢复进行研究,即可发现要想达到关节面恢复可提出两种可能。一种方法是增强关节软骨和软骨下骨的自身愈合能力;另一种方法是通过软骨细胞、软骨原细胞或具有生长新软骨能力的组织移植,再生新的关节面,即关节面生物学重建。下面就这两种方法分别加以讨论。

3.1 增强关节软骨和软骨下骨内在愈合能力的治疗 传统促进损伤关节软骨和软骨下骨内在愈合能力的方法,主要靠来自骨髓穿过软骨下骨的髓内多极细胞(pluripotential cell)或通过力学的、电流的、激光以及其他方法刺激愈合达到损伤软骨和软骨下骨恢复。最近,开展使用生物学作用物质如生长因子(growth factors)和细胞因子(cytokines)的研究,有时与建立的愈合支架(scaffolds)结合起到关节软骨和软骨下骨损伤的愈合恢复作用。

3.1.1 软骨下骨钻孔、磨擦或微骨折 关节软骨细胞存在于无血管分布的环境(environment),当关节面损伤仅限于软骨层时,通常没有愈合能力。许多研究者试图通过损伤关节软骨下骨钻孔(drilling)、研磨(abrading)或产生所谓的微骨折(microfractures)刺激关节软骨愈合。所有这些方法都是通过骨髓的多极干细胞(pluripotential)穿过关节软骨下骨达到软骨恢复的。Meachim 和 Roberts 在成年雄兔 21 个膝的关节软骨剥脱后,于剥脱的关节软骨下骨面钻许多小孔,经处理的兔 2 年后,并没发现剥脱的关节软骨很好的愈合,甚至也很少看到外露的骨面被非软骨性组织完全覆盖^[1]。Mitchell 和 Shepard 在 25 只成年兔的膝关节剥脱的关节软骨下骨共作了 1mm 直径钻孔 30 个,其后观察结果相同^[2]。但 Vachon 等^[3]证明马膝关节穿过关节软骨和软骨下骨的钻孔,可发生纤维软骨愈合。Kim 等^[4]发现,关节软骨损伤后如果进行研磨延伸至软骨下骨,对关节软骨损伤的愈合都有促进作用。因此,一些穿透损伤关节软骨之软骨下骨的小块软骨缺损更有利于损伤软骨的愈合。不过,对于老年患者或骨性关节炎的大块关节软骨缺损则例外。

Altman 等^[5]证明关节软骨研磨关节成形术(abrasion arthroplasty)刺激关节软骨愈合反应,并无产生关节透明软骨的作用。Friedman 等^[6]短期随访(平均 1 年)膝关节全层软骨缺损 110 例病人,发现损伤关节软骨在研磨关节成形术后有 60% 病例出现促进愈合作用,而且对于 40 岁以下患者作用更明显。相反, Rand^[7]报告关节软骨缺损软骨下骨外露患者 28 例,经研磨关节成形术后随访(平均 3.8 年),有 11 例病人改

进不大,8 例无变化,9 例病情加重。研磨关节成形术的患者,其中有 14 例术后平均 3 年又选用补救(salvage)治疗——全膝关节置换术(a total knee arthroplasty)。下面对 126 例单间隔膝骨关节炎(unicompartmental gonarthrosis)手术治疗后(平均 60 个月)随访,进行回顾性比较评价:Bert 和 Maschka^[8]报告,采用研磨关节成形术结合关节清理术治疗的 59 例,疗效满意率 67%;仅选用关节镜行关节清理术治疗的病例,疗效满意率为 79%,二者形成鲜明对比。

1997 年 Steadman^[9]介绍推广所谓微骨折技术,使用小的锐器如手锥(awl)或手针,以手力制作多个小孔。该项手术技术根据的理论是手锥(awl)产生骨小梁折断的微骨折,从而避免了采用高速骨钻所出现的骨小梁折断和热坏死(heat necrosis),因此微骨折导致了损伤关节软骨的愈合反应。虽然这种方法认为手锥(手针)比起钻头钻孔操作更容易,消除了钻头引起的骨小梁热坏死更有利于损伤关节软骨的愈合反应,但通过比较性研究资料的观察,尚不能证实其有效作用,仍需进一步验证这种技术的提法是否确切。

3.1.2 关节损伤术后不断被动运动疗法 Salter^[10,11]介绍和研究许多种关节损伤术后治疗,采用不断被动运动疗法的生物学原理。他及其同事对关节软骨损伤术后采取不同治疗的两组兔子,经 25 天后研究证明:关节软骨损伤术后连续不断的被动运动能够促进损伤关节软骨愈合。实验方法:每个兔子 1 个膝关节的关节软骨钻 1mm 直径孔 4 个,术后兔子分成 2 组,一组兔子关节术后连续不断被动运动,其中 10 只未成年小兔膝关节 40 个关节软骨缺损 60% 可看到明显的透明软骨愈合(healing with hyaling cartilage),10 只成年兔的 40 个关节软骨缺损 44% 以透明软骨愈合;相反,另一组兔子膝关节的关节软骨术后仅以石膏固定关节或在饲养笼子里不动,结果发现只有少数兔子(约 10%)的关节软骨缺损出现透明软骨愈合。在以后的研究进一步证明,虽然关节软骨损伤术后不断连续被动运动能促进损伤关节软骨愈合,但关节软骨缺损直径大于 3mm 以上时则对愈合很少发生作用。

3.1.3 电刺激(electrical stimulation)疗法 Lippiello 等^[12]报告,兔膝关节软骨缺损选用的脉冲直流电治疗(pulsed direct current)后,对软骨缺损只有很小的促进愈合作用。脉冲直流电治疗每天只有在 4 小时以上,才能出现最大疗效。Baker 等^[13]虽然于 1974 年报告电刺激有利于损伤关节软骨愈合,但是他们实验的证据不足(实验的每组动物 3 个甚至更少)。特别值得注意的是,他们的实验仅发现关节软骨缺损的外周有软骨愈合反应,于关节软骨缺损处却未见到。因此,电刺激

对损伤关节软骨愈合的促进作用尚不清楚,仍需开展更多种形式的实验和临床装置进行试验进一步确定其有效参数。

3.1.4 激光(lasers)疗法 Reed等^[14]发现成年兔机械诱发骨性关节炎的18个膝关节,采用激发物(308nm nanometer = 10^{-9} 米)氙-氯(Xenon-Chloride)紫外线(ultraviolet)激光(excimer laser)治疗与关节切除术、冲洗疗法比较没有有效作用。由此可见,激光治疗是否有助于损伤关节软骨愈合还有待证实。

3.1.5 药物(pharmacological agents)疗法

(1) 全身给药:许多研究都希望有一种能推广又被骨科医生和病人所接受的那样一种治疗骨性关节炎的全身性药物,不过至今还没有找到。

(2) 关节内注射:以这种方法帮助损伤关节软骨愈合,目前实验和临床都在使用,其药物可归为三类:皮质类固醇(corticosteroid),透明质酸(hyaluronic acid),和生长因子(growth factors)。

a. 皮质类固醇:皮质类固醇对损伤关节软骨修复愈合的作用仍有争论。一些作者提出皮质类固醇有促进损伤关节软骨愈合的作用,但又有一些作者发现皮质类固醇可伤害关节软骨正常生理过程诱发关节病发生。最后结论,尚需实验和临床的进一步研究证实。

b. 透明质酸:关节软骨退变,骨性关节炎的发生发展与透明质酸的代谢有明显关系。日本、美国等一些厂家已广泛应用于关节软骨损伤的治疗,并被称为关节滑液粘滞度的补偿剂(viscosupplement)。其作用机制决非简单的关节润滑(lubricant),已逐渐被证明是一种直接的生物化学作用。透明质酸(HA)对关节的三种作用:HA通过层连蛋白(LN)的结合价与蛋白多糖(PG)结合形成酸性粘多糖,构成软骨基质。

HA在关节液内有大量分布,HA与PG结合形成粘稠关节液。HA与PG结合覆盖在关节软骨和滑膜表面形成保护层。在关节软骨损伤、衰老、物理、化学因子作用后软骨细胞、滑膜细胞、纤维细胞以及血细胞等结缔组织细胞分泌炎性细胞因子(IL-1、TNF等)使金属蛋白酶(MMPs)激活。MMPs可裂解PGLN-HA(GAG)中的LN-HA结合键,从而使软骨基质减少、关节液稀薄和关节软骨、滑膜表面失去保护。补充HA则可缓解这一过程,从而OA病情有所减轻^[15]。

c. 生长因子:关节内注射生长因子,如转化生长因子-1、胰岛素样生长因子-1和骨形态发生蛋白等。根据大量的试管内研究资料显示,这些因子有软骨形成的作用。

(3) 局部给药 输送有效的生长因子或其他生物活性制剂(bioactive agents)行关节内注射更引人注意的方法是关节面软骨缺损局部插入填充物(plugin)。

近来越来越多的人植骨治疗关节软骨缺损疗效报告,都是采用含有生长因子支架的植入,将在以后讨论。

3.1.6 关节软骨缺损修复常用的支架和支架复合物 有些研究者单独使用支架,或支架与生长因子(有时为软骨细胞)联合来促进缺损的关节软骨修复。采用试验的材料有如下几种:非吸收性材料,包括碳纤维(Carbon fiber)、涤纶(Dacron)和特氟隆(Teflon,聚4氯乙烯塑料)、多孔金属塞等。

可吸收性材料为可吸收性聚合物(polymers)或异分子聚合

物(copolymers),包括多羟基乙酸(polyglycolic acid)和多乳酸(polyactic acid)、纤维素(fibrin)。胶原(Collagen)。半月板自体移植(meniscal allografts)用于诱发修复愈合组织,但不能恢复原有的关节面。

根据推测蛋白多糖(proteoglycan,PG)有可能阻止部分关节软骨缺损面上间质细胞(mesenchymal cell)的移动连接。Hunziker等^[16,17]先后报告,关节软骨部分缺损局部使用含有促细胞有丝分裂(mitogenic)生长因子的纤维素块(fibrin clot)主要含成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor)、转化生长因子-1(transforming growth factor-1)和生长激素(growth hormone)以提供细胞移动的基质或支架。这种方法与采用软骨素酶(chondroitinase)A、B、C联合治疗部分软骨缺损时,可诱发间质细胞(可能来自滑膜组织)覆盖增加。于48周时关节软骨缺损腔隙已经充满结缔组织。

十九世纪70年代中期,对关节软骨愈合报告了一种胶原海绵(collagen sponge)技术。该方法是出于利用胶原海绵作成软骨缺损修复的细胞支架(scaffold),以此起到促进细胞生长和合成细胞外基质成分作用的想法。后来Wakitani等^[18]发明一种使用胶原胶(collagen gel)作为关节软骨缺损植入和保留软骨细胞(chondrocytes)的载体(a carrier)。Oka等^[19]观察发现,人工合成的聚乙烯醇水胶(polyvinyl alcohol hydrogel)附着在钛纤维(titanium fiber)上,植入(integrated into)软骨下骨优于纯钛(titanium)或氧化铝(alumina)。

近来进行人体生物学技术的研究,包括对垂直组织特定层带(如软骨、软骨下骨)的靶细胞(the targeting of cells)应用各种不同生长因子(growth factors)的定时(the timed)释放技术,达到关节软骨缺损修复愈合。Sellers等报告,以5 μ g(micrograms)重组(recombinant)人骨形态发生蛋白-2(BMP-2)浸透胶原海绵(collagen sponge)治疗成年兔的全厚关节软骨缺损,获得修复愈合成功。该治疗不仅促进了新软骨下骨的形成,而且也改进了覆盖关节软骨缺损组织学上的修复。实验观察表明,于24周时关节软骨缺损形成的关节软骨和软骨下骨之间可见界限标志^[20]。

为了关节软骨缺损的愈合,研究含生长因子或软骨细胞的双相支架法(胶原基质或缩合物 collagen matrix or copolymer),以达到分别影响软骨下骨和软骨的修复的作用^[21,22]。Athanasion等^[21]研究植入支架与局部生长因子释放联合应用使转化生长因子-1(TGF-1)在可生物降解的双相聚合物中。支架由50:50的聚-消旋-乳酸盐与羟基酸盐(poly-DL-lactido-glucalide)混合制成,软骨下骨放较硬状态的,软骨界面以上放较软性状的。植入支架体释放转化生长因子-1(TGF-1)(180ng或1800ng,毫微克(ng),nanograms = 10^{-9} g),刺激成熟山羊关节部分骨软骨缺损修复愈合。但本实验与对照组比较,组织学所见无何不同。

参考文献

- [1] Meachim G, Boberts C. Repair of the joint surface from subarticular tissue in the rabbit knee. *J Anat*, 1971, 109:317-327.
- [2] Mitchell N, Shepard N. The resurfacing of adult rabbit articular cartilage by multiple perforations through the subchondral bone. *J Bone Joint Surg*, 1976, 58-A:230-233.

[3] Vachon A, Branlage LR, Gabel AA, et al. Evaluation of the repair process of cartilage defects of the equine third carpal bone with and without subchondral bone perforation. *Am J Vet Res*, 1986, 47: 2637-2645.

[4] Kim HKW, Moran ME, Salter RB. The potential for regeneration of articular cartilage in defects created by chondral shaving and subchondral abrasion. An experimental investigation in rabbits. *J Bone Joint Surg*, 1991, 73-A:1301-1315.

[5] Altman RD, Kates J, Chun LE, et al. Preliminary observations of chondral abrasion in a canine model. *Ann Rheumat Dis*, 1992, 51: 1056-1062.

[6] Friedman MJ, Berasi CC, Fox JM, et al. Preliminary results with abrasion arthroplasty in the osteoarthritic knee. *Clin Orthop*, 1984, 182:200-205.

[7] Rand JA. Role of arthroscopy in osteoarthritis of the knee. *Arthroscopy*, 1991, 7:358-363.

[8] Bert JM, Maschka K. The arthroscopic treatment of unicompartmental gonarthrosis: a five-year follow-up study of abrasion arthroplasty plus arthroscopic debridement and arthroscopic debridement alone. *Arthroscopy*, 1989, 5:25-32.

[9] Steadman JR, Rodrigo JJ, Briggs KK, et al. Long-term results of full-thickness articular cartilage defects of the knee treated with debridement and microfracture. Read at the Linvatec Sports Medicine Conference, Vail, Colorado, 1997.

[10] Salter RB, Ogilvie-Harris DJ. The healing of intra-articular fractures with continuous passive motion. In: Louis ST, Mosby CV. *Instructional Course Lectures. American Academy of Orthopaedic Surgeons*, 1979, 28:102-117.

[11] Salter RB. The biologic concept of continuous passive motion of synovial joints. The first 18 years of basic research and its clinical application. *Clin Orthop*, 1989, 242:12-25.

[12] Lippello L, Chakkalakal D, Connolly JF. Pulsing direct current-induced repair of articular cartilage in rabbit osteochondral defects. *J Orthop Res*, 1990, 8:266-275.

[13] Baker B, Spadaro J, Marino A, et al. Electrical stimulation of articular cartilage regeneration. *Ann New York Acad Sci*, 1974, 238:491-499.

[14] Reed SC, Jackson RW, Gossop N, et al. An in vivo study of the effect of excimer laser irradiation on degenerate rabbit articular cartilage. *Arthroscopy*, 1994, 10:78-84.

[15] 吴海山, 钱其英, 顾其胜. 关节注射透明质酸钠预防兔骨性关节炎的实验研究. *中华骨科杂志*, 1996, 16(1):37.

[16] Hunziker EB, Rosenberg LC. Repair of partial-thickness defects in articular cartilage: cell recruitment from the synovial membrane. *J Bone Joint Surg*, 1996, 78-A:721-733.

[17] Hunziker EB, Kapfinger E. Removal of proteoglycans from the surface of defects in articular cartilage transiently enhances coverage by repair cells. *J Bone Joint Surg*, 1998, 80-B(1):144-150.

[18] Wakitani S, Kimura T, Hirooda A, et al. Repair of rabbit articular surfaces with allograft chondrocytes embedded in collagen gel. *J Bone Joint Surg*, 1989, 71-B(1):74-80.

[19] Oka M, Chang Y, Nakamura T, et al. Synthetic osteochondral replacement of the femoral articular surface. *J Bone Joint Surg*, 1997, 79-B(6):1003-1007.

[20] Sellers RS, Peluso D, Morris EA. The effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rgBM-2) on the healing of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg*, 1997, 79-A:1452-1463.

[21] Athanasion KA, Korvick D, Schenck R. Biodegradable implants for the treatment of osteochondral defects in a goat model. *Tissue Eng*, 1997, 3:363-373.

[22] Frenkel SR, Toolan B, Menche D, et al. Chondrocyte transplantation using a collagen bilayer matrix for cartilage repair. *J Bone Joint Surg*, 1997, 79-B(5):831-836.

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

病例报告 ·

骶管注射致全身肌挛缩一例

厚兆军 朱绍兴 黄国华
(崇信县医院,甘肃 平凉 744200)

患者女性,52岁。因腰骶部及左下肢疼痛半年,经CT检查示L₅S₁椎间盘突出收住院后在牵引治疗的同时,用2%利多卡因20ml+维生素B₁100mg+维生素B₁₂500ug+醋酸强的松龙125mg+地塞米松10mg+ATP40mg+CoA100单位组成的混合液计42ml行骶管注射,当混合液推注剩8ml左右时,病人突然出现意识丧失,全身肌肉挛缩,且伴有惊

厥。立即拔针行肌注异丙嗪25mg、安定10mg,静推20%甘露醇250ml,吸O₂等抢救处理。约5分钟后,肌挛缩缓解,15分钟后,意识恢复,可下床自主行走。双下肢肌力、感觉无异常。

讨论

目前关于骶管注射治疗腰腿痛的报告不少。但混合液配方较乱。笔者平素

用2%利多卡因10ml组成的复合液行骶管注射100余例,均较安全。本次加大了利多卡因的量,虽未超过极量,但出现了上述意外。分析仍为局麻药中毒引起。因骶管内静脉丛丰富,短时间内局部麻药浓度过高而致。教训在行骶管注射时,一定要注意局麻药的剂量和推注的速度。

(收稿:2000-07-06 编辑:李为农)