

# 自体骨膜移植修复关节软骨缺损 生发层不同朝向的比较研究

李 奇\* 韩天荣\*

**摘 要** 为了观察骨膜再生软骨中, 骨膜生发层不同的朝向是否影响软骨再生。应用人体纤维蛋白粘合剂粘合自体骨膜修复兔关节软骨缺损, 对移植骨膜生发层不同朝向(即朝向关节腔或软骨下骨)的差别进行比较。结果表明: 6 周前, 朝向关节腔组增殖较快, 6 周后两组无明显差别, 故生发层的朝向不是一个重要影响因素。另外, 应用藏红 O 蛋白多糖染色的电镜观察, 证实两组再生软骨均为透明软骨。

**关键词** 骨膜 再生软骨 关节软骨修复 纤维蛋白粘合剂

近年来, 国内外的研究结果均证明自体骨膜移植可再生关节软骨, 但对于生发层的朝向问题则存在不同看法, 即自体骨膜移植时, 生发层应朝向关节腔, 还是软骨下骨。另外, 这种新生软骨属透明软骨还是纤维软骨, 亦缺少超微结构的研究。为应用自体骨膜再生关节软骨的临床, 提供更好的理论根据, 探索移植方法, 我们用人体纤维蛋白粘合剂粘合自体骨膜修复关节软骨缺损, 对生发层的不同朝向进行了比较研究, 并对这种新生软骨的蛋白多糖进行组化染色后的超微结构观察。现报道如下。

## 1 材料与方法

纯种新西兰兔 24 只, 48 侧膝关节, 随机分为骨膜生发层朝向关节腔组和软骨下骨组。每组 12 只 24 侧膝关节。手术方法: 3% 戊巴比妥钠按 30mg/kg 腹腔麻醉。取髌骨内侧旁直切口, 长约 6cm, 逐层进入关节腔。髌骨向外侧牵开。用骨刀在股骨髁滑车部凿出 0.6cm × 1.2cm 大小的关节软骨缺损区, 深达软骨下骨出血处。在同一切口下端逐层暴露胫骨上端内侧骨膜, 手术刀划出 0.75cm × 1.5cm 大小的骨膜切迹, 丝线标记骨膜生发层后, 将骨膜取下。取人纤维蛋白粘合剂(上海生物制品研究所)一套, 分别溶解后, 同时向缺损内注入, 基底部形成一层凝胶状薄膜。取出骨膜, 按分组情况, 将生发层朝向关节腔或软骨下骨, 覆盖缺损底部, 轻压 1 分钟, 缝合切口。术后膝关节用石膏管型制动在屈膝 45 位, 1 周后拆除石膏, 在笼中自由活动。术后 2 周和 6 周取材进行肉

眼和光镜观察, 12 周和 20 周取材进行肉眼、光镜和藏红 O (safranin O) 组化染色后透射电镜观察。

## 2 结果

本实验期间无动物死亡, 有 2 侧切口皮肤轻度感染, 经局部处理, 全部愈合。有 1 侧移植骨膜脱落于关节腔中, 形成游离体。

2 周组: 肉眼观察, 见两组移植植物均为白色, 不透明, 质软。关节腔组移植植物增殖明显, 其中 5 侧完全填平缺损, 1 侧部分填平缺损。软骨下骨组增殖稍差, 仅 1 侧完全填平缺损, 两组增殖情况有显著差异 ( $P < 0.05$ )。光镜检查, 两组均见大量细胞增殖, 以成纤维样细胞为主。关节腔组细胞增殖更明显, 其中部分出现软骨母细胞, 软骨下骨组则较少软骨母细胞。

6 周组: 肉眼观察, 见两组移植植物呈灰白色, 表面光滑, 质地较 2 周组为硬, 所有缺损均被填平。两组间无明显差别。光镜检查, 见增殖组织以软骨样组织为主, 大量软骨母细胞, 两组间在细胞数量及细胞形态上难以区别。

12 周组: 肉眼观察, 见两组移植物色泽与周围软骨相似, 表面光滑, 透明, 但与周围软骨界线尚可见。光镜检查, 见新生组织内大量软骨细胞, 基底部形成骨性连接, 软骨和软骨下骨移行区交界不明显。电镜检查, 见细胞器丰富, 细胞膜多突起, 膜周围及细胞内均可见蛋白多糖颗粒, 基质内蛋白多糖颗粒附着在胶原微纤维上, 胶原微纤维呈网状排列, 无明显周期性横纹, 生发层不同朝向组间无明显差别(图 1)。

20 周组: 肉眼观察, 见两组新生物形态极似正常关节软骨。光镜检查, 见大量软骨细胞, 陷窝明显, 基

\* 第一军医大学附属珠江医院骨科(广州, 510282)

质较多,基部已纤维化骨,但细胞排列不规则,各层细胞形态相似,但无正常关节软骨的潮线结构。电镜检查,见细胞形态近似 12 周组,细胞内细胞器减少,基质内蛋白多糖颗粒较 12 周组减少,尚可见到极少数软骨细胞退化,生发层不同朝向组间亦无明显差别(图 2)。

### 3 讨论

组织学上,骨膜分为纤维层和生发层。生发层位于骨膜内层,紧贴骨面,其细胞成分较多。生发层细胞属于未分化的间充质细胞,这种细胞具有终身的潜在分化能力,其分化作用存在双向性,即依据所处环境条件的不同,可分化为骨母细胞或软骨母细胞。骨膜正是由于这一特性,被置于软骨环境下再生软骨,修复关节软骨缺损。Rubak<sup>[1]</sup>和 O'driscoll<sup>[2]</sup>都通过不同的方法进行了骨膜再生关节软骨的实验,证实骨膜再生的软骨形态非常类似正常透明软骨,不易退变。其生化成分主要含 II 型胶原<sup>[3]</sup>。我们通过组化染色电镜观察,证实这种再生软骨不仅在细胞形态、数量上与关节透明软骨相似,且其蛋白多糖胶原、微纤维及其相互间的排列关系与正常透明软骨也一致。另外,还可见到部分退变的细胞,这与正常关节透明软骨一样,存在细胞更新过程。

一般认为,移植骨膜再生关节软骨中的细胞主要来源于骨膜的生发层细胞<sup>[4]</sup>。但移植的骨膜其生发层应朝向关节腔还是朝向软骨下骨,尚未取得一致看法。Rubak 在实验中修补软骨缺损的移植骨膜生发层均朝向软骨下骨<sup>[1]</sup>。O'driscoll 比较了移植骨

膜生发层不同朝向时软骨的生成量,结果生发层朝向关节腔组优于软骨下骨组织,认为骨膜生发层朝向关节腔有利于吸收滑液内的营养和关节活动的刺激,使细胞迅速增殖<sup>[5]</sup>。Jaroma 等则比较了骨膜生发层不同朝向对自体骨膜游离移植重建髌骨关节面的影响,发现生发层朝向关节腔组早期软骨较薄,但认为这种差别意义不大<sup>[6]</sup>。我们在观察骨膜生发层两种朝向时软骨生成情况中发现,2 周时,移植骨膜朝向关节腔的增殖较快,完全修复的占 5 侧,而朝向软骨下骨组仅有 1 侧,但 6 周后则两组均全部修复,两组间无区别。12 周后,经藏红 O 组化染色后的超微结构观察以及光镜检查,两组无区别。我们认为这可能是由于早期营养来源于滑液,生发层朝向关节腔有利于物质交换。6 周后,由于移植植物与软骨下骨建立了血循环,移植植物可从血液中吸取部分营养。由此认为,骨膜再生软骨中,生发层的不同朝向不是一个重要影响因素。过去对这个问题看法不一致,可能与各自的实验方法和研究周期不完全相同有关。

我们发现纤维蛋白粘合剂具有止血、粘合的优点,可防止移植植物下血肿形成及关节内粘连,但存在的缺点是粘合强度不够。我们在预实验时发现若粘合后膝关节不予制动,移植植物脱落较多。本组实验膝关节制动 1 周后,仍有 1 侧移植植物膜脱落。因此,临床应用时移植膜的固定尚有待探讨。

藏红 O 染色是研究软骨的较好方法<sup>[7]</sup>,尤其是在电镜下,既可观察蛋白多糖的分布、含量及与胶原的排列关系,同时还能观察胶原的形态结构、细胞和细胞器,了解细胞的代谢状况。

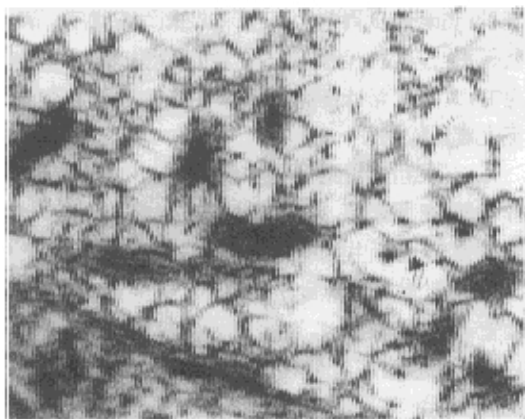


图 1 经藏红 O 染色的软骨蛋白多糖颗粒( )附着在胶原纤维上(↑)(×30K)

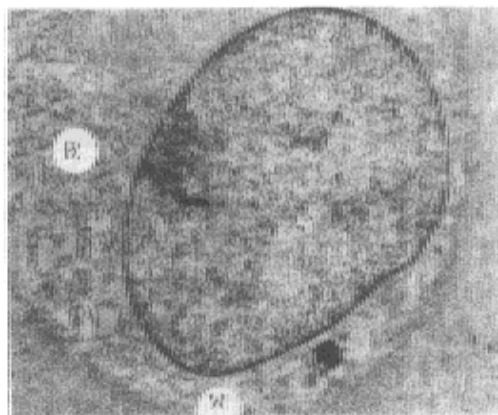


图 2 20 周组的细胞器较 12 周组减少,可见少数线粒体(M)和内质网(R)(×5K)

#### 4 参考文献

- 1 Rubak JM. Reconstruction of articular cartilage defect with free periosteal grafts. An experimental study. *Acta Orthop Scand*, 1982; 53(2): 175
- 2 O 'driscoll SW, Salter RB. The induction of neochondrogenesis in free intra-articular periosteal autografts under the influence of continuous passive motion. An experimental investigation in the rabbit. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1984; 66(8): 1248
- 3 O 'driscoll SW, Keeley FW, Salter RB. Durability of regenerated articular cartilage produced by free autogenous periosteal grafts in major full-thickness defects in joint surfaces under the influence of continuous passive motion. A follow up report at one year. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1988; 70(4): 595
- 4 Zarnett R, Delaney JP, O 'driscoll SW et al. Cellular origin and evolution of neochondrogenesis in major full thickness defects of a joint surface treated by free autogenous periosteal grafts subjected to continuous passive motion in rabbits. *Clin Orthop*, 1987; 222(9): 267
- 5 O 'driscoll SW, Keeley FW, Salter RB. The chondrogenic potential of free autogenous periosteal grafts for biological resurfacing of joint under the influence of continuous passive motion. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1986; 68(7): 1017
- 6 Jaroma HJ, Ritsila VA. Reconstruction of patellar cartilage defects with free periosteal grafts. An experimental study. *Scand J Plast Reconstr Surg*, 1987; 21(2): 175
- 7 Shepard N, Mitchell N. The localization of proteoglycan by light and electron microscopy using safranin O. *Ultrastr Res*, 1976; 54(3): 451

(收稿: 1994-09-23 修回: 1995-07-07)

**COMPARISON BETWEEN THE DIFFERENT FACING DIRECTIONS OF GERMINAL LAYER OF PERIOSTEUM IN REPAIRING ARTICULAR CARTILAGE DEFECT** / Li Qi, Han Tianrong. *Department of Orthopaedic Surgery, Zhujiang Hospital of First Military Medical University of PLA, Guangzhou 510282*

**Abstract** In order to observe the effects of different facing directions of the germinal layer of periosteum on the cartilage regeneration, the human fibrin adhesive agent was used to adhere autogenous periosteum to repair the articular cartilage defect of rabbits. Twenty-four rabbits with 48 knee joints were divided randomly into two groups. A 0.6cm × 1.2cm articular cartilage defect was created on the femoral trochlea until there was bleeding from the subchondral bone. A piece of periosteum, sized 0.75cm × 1.5cm, was removed from the medial aspect of upper tibia. The periosteum was adhered to the defect by human fibrin adhesive agent. In Group 1 the germinal layer faced the subchondral bone and in Group 2 the germinal layer faced the joint cavity. The cartilage regeneration in both groups was observed by naked eyes and light microscope in 2nd and 6th weeks and by electron microscope after Safranin O stained in 12th and 20th weeks. The results showed that before the 6th week, the cartilage regeneration was faster in Group 2 than that in Group 1. After that there was no significant difference in regeneration between the two groups. This suggested that the facing direction of the germinal layer was not a critical factor on cartilage regeneration. It was also found that the strength of the adhesive agent was not enough. The regenerated cartilage was proved to be hyaline cartilage.

**Key words** Periosteum Cartilage regeneration Repair of articular cartilage Fibrin adhesive agent