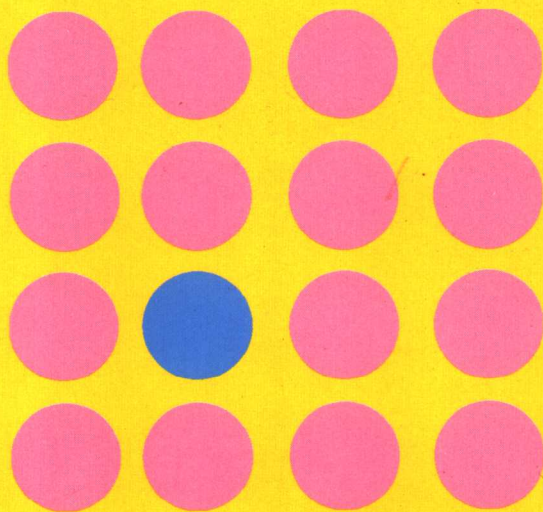


中国体育博士文丛

硅橡胶

修补关节软骨的 实验研究

王梅 著



北京体育大学出版社

硅橡胶修补关节软骨的实验研究

王 梅 著

北京体育大学出版社

策划编辑 李 建
责任编辑 高 扬
审稿编辑 李 飞
责任校对 静 一
责任印制 陈 莎

图书在版编目(CIP)数据

硅橡胶修补关节软骨的实验研究/王梅著. -北京:北京体育大学出版社,2007.6
ISBN 978-7-81100-772-5

I. 硅… II. 王… III. 硅橡胶-植入-影响-关节软骨-研究 IV. R687.4

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第072099号

硅橡胶修补关节软骨的实验研究 王梅 著

出 版 北京体育大学出版社
地 址 北京海淀区中关村北大街
网 址 www.bsup.cn
邮 编 100084
发 行 新华书店总店北京发行所经销
印 刷 北京雅艺彩印有限公司
开 本 787×1092 毫米 1/16
印 张 7
字 数 150千字

2007年6月第1版第1次印刷

定 价 28.00元(平) 48.00元(精)

(本书因装订质量不合格本社发行部负责调换)

责任编辑
封面设计

高扬
海子



作者简介

王梅 1975年1月出生，湖北武汉市人，医学博士，现就职于武汉体育学院。1992年考入成都体育学院运动医学系，1997年获学士学位。1997~2000年在武汉体育学院师从扈克文教授，专业为运动医学，研究方向为运动损伤，获得硕士学位。2000~2003年在北京大学医学部师从于长隆教授，专业为运动医学，研究方向为运动创伤防治，并获博士学位。参编的著作有：《体育生物学医学基础研究与进展》，合译的著作有：《骨科基础科学：骨关节肌肉系统生物学和生物力学》。主要参与的课题有：《人工材料修补关节软骨研究》（北京市科学技术委员会课题）、《优秀运动员应激损伤机理和调控方法的研究》（国家体育总局奥运科技攻关项目）、《中国优秀运动员生理、心理、营养常数调查》（国家科技部课题）。现为武汉体育学院运动医学教研室副教授，主要从事运动医学、运动营养学教学并进行运动损伤、医务监督的研究。

摘 要

实验目的:

了解硅橡胶植入后对周围关节软骨的影响。

实验方法:

在 56 只成年新西兰兔的膝关节滑车处造成直径 3 毫米的全层关节软骨缺损模型。动物右膝植入硅橡胶, 设为实验组; 左膝行同样手术, 造成全层关节软骨缺损后不植入硅橡胶, 为自身对照组。术后 4 周、12 周、24 周和 48 周择期处死动物。取脑、心、肝、肾组织, 切片并行 HE 染色。拍膝关节侧位 X 片, 检查关节软骨内硅橡胶的固定情况。在进行大体观察后, 取动物的双膝, 进行组织学、免疫组织化学检查和分子生物学检查。膝关节的组织学检查包括股骨滑车处关节软骨和与缺损相对应处髌骨关节软骨的 HE 染色、甲苯胺蓝染色和滑膜组织的 HE 染色。免疫组织化学检查包括对股骨滑车关节软骨的组织学切片进行 I 型胶原、II 型胶原和 III 型胶原单克隆抗体的免疫组织化学检查。分子生物学检查包括对股骨滑车关节软骨的组织学切片进行 I 型、II 型和 III 型前胶原 mRNA 的原位杂交检查。

结 果:

硅橡胶植入膝关节后可牢固固定于关节内, 不会落入关节腔形成游离体。对照组关节软骨损伤后周围关节软骨逐渐发生严重的退行性改变, 形成骨关节炎。术后各周实验组滑车处关节软骨和髌骨关节软骨发生退行性改变的过程晚于对照组。实验组和对照组滑膜组织中有部分滑膜增生, 但未见硅橡胶性滑膜炎发生。硅橡胶可延缓关节软骨发生退行性变, 合成 I, III 型胶原蛋白的过程。硅橡胶植入对兔脑、心、肝、肾组织无明显不良影响, 各组织内均未见硅橡胶颗粒。

结 论:

硅橡胶植入可以作为修补关节软骨缺损的一种方法, 植入硅橡胶可延缓由于关节软骨缺损导致的骨关节炎。关节软骨缺损如果不采用积极的治疗手段, 将在短期内形成骨关节炎。本研究所采用的硅橡胶可作为关节软骨缺损的修复材料。I 型前胶原 mRNA 可能可以作为早期 OA 的分子标志。

Repair of Articular Cartilage Defects With Silicone Rubber In a Rabbit Model

Objective To study the long – term influence of silicone rubber implantation on surrounding articular cartilage. Methods Full – thickness articular cartilage defects were produced in trochlea grooves of both knees of fifty six adult New Zealand white rabbits. On right knee, the defect was plugged with silicone rubber, while on the left knee the defect was left open as control. After taking X – rays, the joint surfaces were examined grossly, histologically (HE), histochemically (Toluidine Blue) and immunohistochemically (Type I, II and III collagen) and molecule biologically (In Situ Hybridization of precollagen I, II and III mRNA) studies. Besides, the brain, heart, liver and kidney, synovium and articular cartilage of patella were also collected, processed for histological exam. Results X – ray showed that the silicone rubbers were fitted into the defects tightly in all rabbits, no loose body was observed in all knees. Slight degenerative changes were found in surrounding cartilage and patellar cartilage in experimental group while severe degenerative changes were found in control group. No silicone synovitis was found in all experimental group. No silicone particles were found in brain, liver, heart and kidney under histological exam. Silicone rubber implantation may delay the degenerated progression of synthesis collagen I and III. Conclusions Silicone rubber may be new methods to repair cartilage defect, silicone rubber implantation can delay the pathogenetic progression of osteoarthritis. Articular cartilage defect may progress to osteoarthritis without active treatment in short time. The silicone rubber used in this study may be the alternative material for articular cartilage defect repair. Precollagen I mRNA may be the molecular marker of early stage osteoarthritis.

《中国体育博士文丛》出版说明

《中国体育博士文丛》是中国体育高水平学术理论专著的重要组成部分，代表中国体育科学研究的最新成果，是中国体育博士展现聪明才智的有力平台。

作者条件：在世界各地大学、科研院所获得体育博士学位的中国公民。可以是独立作者，也可以是联合作者，但都必须具有体育博士学位。

稿作要求：15万字（含图表部分）A4纸打印，光盘储存。论文构件齐全，包括作者简介、序（前言）、正文、参考文献、附录、后记、作者照片。

通讯地址：100084 北京市海淀区中关村北大街北京体育大学出版社教材专著事业部

咨询方式：010 - 62989469 62989434

lianglin825@163.com

《中国体育博士文丛》

已出版书目

现代体操运动训练科学化探骊——运动训练时间理论研究

王文生著 定价：38.00元

竞技体操训练的科学化探索——竞技体操创新理论研究

吕万刚著 定价：28.00元

竞技体育的意义——价值理论研究探微

颜天民著 定价：28.00元

中国体育人口的理论探索与实证研究

仇军著 定价：48.00元

职业篮球市场论

杨铁黎著 定价：28.00元

中国竞技体育人才开发

宋全征著 定价：33.00元

人体运动环节重量参数测量新思路

李世明著 定价：28.00元

论体育生活方式

苗大培著 定价：38.00元

奥林匹克视觉形象的历史研究

王军著 定价：28.00元

我国运动训练科学化动力系统的研究

罗超毅著 定价：28.00元

海南体育旅游开发研究

夏敏慧著 定价：38.00元

我国优势项目高水平运动员参赛风险的识别、评估与应对

石岩著 定价：38.00元

散打运动训练监控科学化探微

姜传银著 定价：28.00元

论中华民族传统体育

倪依克著 定价：33.00元

田径运动训练过程控制理论

尹军著 定价：38.00元

训练观念及其导向功能

邓运龙著 定价：33.00元

低氧运动促进肌组织血管生成的机制

郑澜著 定价：33.00元

- CVA 联赛品牌的打造——“全国排球联赛”的兴起与发展
李国东著 定价：28.00 元
- 中小学生的营养状况及其社会环境影响因素的研究
彭 莉著 定价：28.00 元
- 中国竞技体育资源调控与可持续发展
肖林鹏著 定价：38.00 元
- 体育纪律处罚研究 韩 勇著 定价：38.00 元
- 我国体育经纪人的管理与培养体系
靳 勇著 定价：33.00 元
- 中国排球运动的可持续发展研究 潘迎旭著 定价：28.00 元
- 北京 2008 年奥运会志愿者的组织管理模式与评价体系的研究
李颖川著 定价：38.00 元
- 区域经济发展与体育人才培养
——竞技体育后备人才培养的温州模式研究
周建梅著 定价：28.00 元
- 我国职业体育联盟理论研究 王庆伟著 定价：33.00 元
- 高水平运动员年度训练周期的项群特征
郑晓鸿著 定价：28.00 元
- 运动性贫血时红细胞功能变化以及营养干预对其的影响
金 丽著 定价：28.00 元
- 篮球运动基本理论与实践研究 谭朕斌著 定价：43.00 元
- 论奥林匹克运动发展观 陈立基著 定价：38.00 元
- 运动竞赛方法体系的建构暨对抗性竞赛方法的研究
王 蒲著 定价：38.00 元
- 我国高等体育院（校）系改革与发展的战略研究
李鸿江著 定价：33.00 元
- 武术健身态度动机与群体互动的研究
张春华著 定价：28.00 元
- 运动时间营养学 李世成著 定价：33.00 元
- 中国学校体操历史与发展研究 吴维铭著 定价：33.00 元

- 田径运动专项速度研究 谢慧松著 定价：33.00 元
运动技能形成自组织理论的建构及其实证研究 李捷著 定价：33.00 元
- 职业体育组织的演进与创新 张文健著 定价：33.00 元
国际奥委会组织变革与发展的研究 茹秀英著 定价：33.00 元
- 武术传播引论 郭玉成著 定价：38.00 元
近代以来中国武术项目管理过程及其评价与发展 李蕾著 定价：33.00 元
- 硅橡胶修补关节软骨的实验研究 王梅著 定价：28.00 元
穴位离子导入消除运动性疲劳的机理研究 杨翼著 定价：33.00 元
- 社会性人格焦虑的测量及其与体育锻炼之间关系的研究 徐霞著 定价：28.00 元
优秀运动员的职业变迁与人生发展 黄志剑著 定价：38.00 元
- 运动员选材的选育结合理论与实证研究 隗金水著 定价：38.00 元
比较优势理论下我国各等级项目群体的区域分工研究 罗智著 定价：33.00 元
- 短跑运动员体能训练理论与方法 袁运平著 定价：33.00 元
我国体育生活化探索 梁利民著 定价：28.00 元
- 中国高水平跳远运动员训练内容体系的研究 冯树勇著 定价：28.00 元
论运动技术的序列发展与分群演进 刘建和著 定价：33.00 元
- 武术释义——武术本质及功能价值体系阐释 李印东著 定价：33.00 元
中国武术散打市场化运作模式的研究 李士英著 定价：33.00 元

目 录

1 文献综述	(1)
1.1 正常关节软骨的结构、组成与功能	(1)
1.1.1 关节软骨细胞与潮线	(1)
1.1.2 基质成分	(3)
1.1.3 水 分	(3)
1.1.4 胶 原	(4)
1.1.5 蛋白多糖	(6)
1.1.6 非胶原蛋白与糖蛋白	(7)
1.1.7 脂 质	(8)
1.2 正常关节软骨的营养与代谢	(8)
1.3 软骨损伤的病因及病理	(9)
1.4 关节软骨损伤后修复的研究进展	(10)
1.5 硅橡胶的应用进展	(16)
1.6 既往硅橡胶修补关节软骨的研究工作	(20)
1.7 小 结	(21)
2 前 言	(22)
3 材料与方法	(24)
3.1 主要仪器及设备	(24)
3.2 材料和试剂	(24)
3.3 实验步骤	(26)
3.3.1 动物模型	(26)
3.3.2 实验分组	(26)

3.3.3	检查指标	(27)
3.3.4	标本取材	(27)
3.3.5	大体观察	(27)
3.3.6	石蜡标本制作	(27)
3.3.7	苏木素-伊红染色	(28)
3.3.8	甲苯胺蓝染色	(29)
3.3.9	免疫组织化学染色	(30)
3.3.10	原位杂交染色	(31)
4	结 果	(32)
4.1	大体观察	(32)
4.2	X线观察	(33)
4.3	镜下观察	(33)
4.3.1	正常关节软骨	(33)
4.3.2	滑车关节软骨	(33)
4.3.3	髌骨关节软骨	(34)
4.3.4	关节软骨 I, II, III 型前胶原 mRNA 的合成	(35)
4.3.5	关节软骨 I, II, III 型胶原蛋白的合成	(36)
4.3.6	硅橡胶植入对脑、心、肝、肾组织的影响	(36)
4.3.7	硅橡胶植入对膝关节内滑膜的影响	(36)
5	讨 论	(38)
5.1	硅橡胶植入后关节软骨的变化	(38)
5.2	硅橡胶植入后的固定情况	(44)
5.3	硅橡胶植入对软骨前胶原 mRNA 合成的影响	(44)
5.4	硅橡胶植入对软骨胶原蛋白合成的影响	(45)
5.5	胶原蛋白合成与前胶原 mRNA 合成之间的联系	(47)
5.6	硅胶植入对脑、心、肝、肾组织的影响	(48)
5.7	硅橡胶植入对滑膜组织的影响	(49)

6 结 论	(52)
附图及说明	(53)
参考文献	(84)
英文缩略语	(92)
致 谢	(93)

1 文献综述

1.1 正常关节软骨的结构、组成与功能

关节软骨是组成活动关节关节面的有弹性的负重组织，可减轻关节反复滑动中关节面的摩擦，具有润滑及耐磨损的特性，可吸收机械性震荡，传导负重至软骨下骨。在大多数滑膜关节，关节软骨能够在 80 年或更长的时间内提供这些必要的生物力学功能。

1.1.1 关节软骨细胞与潮线

关节软骨主要由大量的细胞外基质与散在分布其中的已高度分化的细胞组成。基质的主要成分是水，蛋白多糖与胶原，少量的糖蛋白与其他蛋白。从关节软骨的表面到软骨下骨，关节软骨的结构组成依深度而变化，包括细胞形状大小，胶原纤维的粗细与走向，蛋白多糖的浓度及水含量的多少。关节软骨可被分成四层：浅表层、中间层、深层、钙化软骨层。

浅表层位于软骨最表面并构成光滑表面。纤细的胶原纤维与关节表面平行，蛋白多糖的含量最低，水分含量最多〔1〕。中间层胶原纤维略粗，排列不太整齐，软骨细胞外观察近似圆形。深层含蛋白多糖最多，水分最少，胶原纤维的直径更粗，与关节表面垂直排列，软骨细胞呈球形，常以柱状排列。最深层的是钙化软骨层，将透明软骨与软骨下骨分开，其特征是被磷酸盐包裹的小细胞，散在于软骨基质中。

在关节软骨和钙化软骨之间用苏木精 - 伊红染色染色方法可见有一

〔1〕 Mitrovic DR, Damon N. Characterization of proteoglycans synthesized by different layers of adult human femoral head cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*. 1994, 2 (2): 119 - 131

特殊的染色线，称为潮线〔1〕。潮线又被称为钙化前区，矿化前区，嗜碱性线，苏木紫线等。潮线是一种明确的组织学结构，位于关节软骨的深层和钙化软骨之间，通常为略有波浪的直线，其宽径为2微米~5微米，用普通苏木素染色，可见潮线为嗜碱性线，在非脱钙塑料包埋切片中，每个细胞周围均有羟磷灰石。扫描电镜发现有些软骨细胞埋入潮线之中，围绕细胞周围有小丘样钙组织，有时看到血管从软骨下骨穿过钙化软骨到达潮线。透射电镜检查可见在潮线区细胞周围的胶原纤维中有羟磷灰石结晶，其直径为0.1微米~0.2微米〔2〕。在病理情况下，潮线可能有多条。20~60岁者的股骨头潮线数平均为1.4条，60岁以上者为2~3条。组织化学染色证明潮线含有脂肪、三磷酸腺苷、碱性磷酸酶，这些物质与钙化过程有关。此外，在潮线基质中糖蛋白的含量有明显改变，在潮线区的脂肪含有特殊的钙磷脂复合体。这些现象说明在潮线区有特殊的细胞活动和调节过程，因此，潮线不仅连接钙化软骨和非钙化软骨，更重要的是积极参与代谢过程。对于潮线的功能，有两种看法。一种认为潮线是关节软骨防止钙化的屏障；另一种认为潮线是钙化软骨的组成部分，可能是维持动力性平衡的一个因素〔3〕。潮线的异常反映了动力性平衡的失衡，在骨性关节炎情况下多见。

软骨组织除了有这些由关节表面至骨之间各层的不同特性之外，根据基质与软骨细胞的接近程度，基质可分为细胞周、细胞领域与细胞间的基质〔4〕。这些区域的内容物（胶原、蛋白多糖和其他基质成分）不同，胶原纤维的粗细和排列方式也不同。细胞周基质是靠近细胞膜并完全包围软骨细胞的非常薄的一层，主要由蛋白多糖与其他非胶原成分组成，几乎没有胶原纤维。细胞领域由边界处细小的胶原纤维网结构而与细胞间基质区别开来。细胞间基质在软骨组织中所占比例最大，决定了关节软骨的主要特性，含大分子的胶原纤维与大部分蛋白多糖。

〔1〕 Havelka S, Horn V, Spohrova D, et al. The calcified - noncalcified cartilage interface: the tidemark. Acta Biol Hung. 1984, 35 (2-4): 271 - 279

〔2〕 Redler I, Mow VC, Zimny ML, et al. The ultrastructure and biomechanical significance of the tidemark of articular cartilage. Clin Orthop 1975 Oct; (112): 357 - 362

〔3〕 Broom ND, Poole CA. A functional - morphological study of the tidemark region of articular cartilage maintained in a non - viable physiological condition. J Anat 1982 Aug; 135 (Pt 1): 65 - 82

〔4〕 陈启明，梁国穗，秦岭，等. 骨科基础科学，骨关节肌肉系统生物学和生物力学. 人民卫生出版社，第2版. 2001: 382 - 394

关节软骨的形成与维持依赖于软骨细胞。它们来源于间充质细胞，在骨骼的形态发生与发育过程中分化并形成软骨细胞。在骨骼的生长过程中，这些细胞可以增加基质的体积。在成熟组织中，软骨细胞占总组织体积的 10% 以下，负责维持基质。软骨细胞代谢活跃，可以对许多环境刺激产生反应，包括：可溶性调节因子（生长因子、白细胞介素）、药物、基质分子、机械负重，流体压力的变化。虽然软骨细胞一般处于稳定状态，但它对一些因子的反应（如白细胞介素）的反应可以导致基质的退变。关节软骨无神经支配，不依赖神经冲动传递信息；而且它不含单核细胞或免疫球蛋白，所以生理情况下关节软骨中没有免疫反应（细胞或体液免疫）。

1.1.2 基质成分

软骨组织中，软骨细胞只占小部分，水分占正常关节软骨湿重的 65% ~ 80%，其余组织的湿重主要由两种大分子结构组成：胶原（II 型，占 10% ~ 20%）和可聚蛋白多糖（4% ~ 7%）。基质的其他成分还包括脂肪、磷脂、蛋白质和糖蛋白，蛋白多糖，双糖，核心蛋白多糖，胶原（V 型，VI 型，IX 型，X 型，XI 型），连接蛋白，透明质酸，纤维结合素等。虽然它们在总基质中的具体作用还不明确，但它们是除了胶原与蛋白多糖之外的重要成分，也在基质中发挥重要作用。如 IX 型胶原是杂合的，它是由胶原和糖胺聚糖与蛋白质以共价结合区域共同组成，这种分子可加强胶原纤维与蛋白多糖间的相互连接。

1.1.3 水分

水分是正常关节软骨最丰富的部分，骨关节炎的早期，组织分解以前水分的含量可达到 90% 以上^[1]。少量水分位于细胞间隙，30% 的水分位于胶原中的纤维间隙，剩下的位于基质中的分子间隙。组织水分中溶解有无机盐，如钠、钙、氯、钾。整个关节软骨中水分的含量不尽相同，软骨表面为 80%，深层只有 65%。当固体基质受到挤压或存在压力梯度时，水分可以在基质中流动。流经基质分子孔隙的摩擦阻力非常高，而组织的渗透性非常低。基质中水分的摩擦阻力和耐压力使关节软

[1] Mcdevitt CA, Helen M. Biochemical changes in the cartilage of the knee in experimental and natural osteoarthritis in the dog. *J Bone Joint Surg*, 1976, 58B: 94 - 106