



he reparative effect and mechanism of low power
laser for the enthesiopathy of Achilles tendon of rats

低功率激光对末端病大鼠跟腱 修复作用及其机制研究

沈勇伟 著

北京体育大学出版社

江苏省优势学科建设经费资助出版

江苏省重点序列学科（体育学）建设经费资助出版

低功率激光对末端病大鼠跟腱 修复作用及其机制研究

沈勇伟 著

北京体育大学出版社

策划编辑 力 歌
责任编辑 张 力
审稿编辑 苏丽敏
责任校对 罗乔欣
版式设计 博文宏图

图书在版编目 (CIP) 数据

低功率激光对末端病大鼠跟腱修复作用及其机制研究/沈勇伟
著. - 北京: 北京体育大学出版社, 2016. 5
ISBN 978 - 7 - 5644 - 2281 - 3

I. ①低… II. ①沈… III. ①跟腱 - 腱疾病 - 激光疗法 - 修
复术 - 研究 IV. ①R686. 1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 108585 号

低功率激光对末端病大鼠跟腱修复作用及其机制研究

沈勇伟 著

出 版 北京体育大学出版社
地 址 北京海淀区信息路 48 号
邮 编 100084
邮 购 部 北京体育大学出版社读者服务部 010 - 62989432
发 行 部 010 - 62989320
网 址 <http://cbs.bsu.edu.cn>
印 刷 北京京华虎彩印刷有限公司
开 本 710 × 1000 毫米 1/16
成品尺寸 240 × 170 毫米
印 张 10
字 数 159 千字

2016 年 10 月第 1 版第 1 次印刷

定 价 26.00 元

(本书因装订质量不合格本社发行部负责调换)

目 录

CONTENTS

序 言	(1)
研究背景	(1)
文献综述	(3)
第一章 材料与方法	(56)
1.1 实验动物及其分组	(56)
1.2 动物的饲养	(57)
1.3 实验方法	(57)
1.4 取 材	(58)
1.5 指标测试方法	(59)
1.6 所用主要仪器	(71)
1.7 统计分析	(72)
第二章 实验结果	(73)
2.1 大鼠跟腱 HE 染色光镜观察结果	(73)
2.2 大鼠跟腱投射电镜观察结果	(76)
2.3 大鼠跟腱生物力学性能指标测试结果	(79)
2.4 大鼠跟腱羟脯氨酸结果	(81)
2.5 大鼠跟腱蛋白多糖测试结果	(82)
2.6 大鼠跟腱 Collagen - I 测试结果	(84)
2.7 大鼠跟腱 Collagen - III 测试结果	(87)
2.8 大鼠跟腱 TGF - β 1 测试结果	(89)
2.9 大鼠跟腱 MMP - 1 测试结果	(92)
2.10 大鼠跟腱 TIMP - 1 测试结果	(94)
第三章 讨 论	(97)

3.1	末端病的产生及其可能机制	(97)
3.2	低功率激光治疗末端病大鼠跟腱的可行性、创新性和有效性	(99)
3.3	低功率激光对末端病大鼠跟腱组织形态学的影响	(101)
3.4	低功率激光照射对末端病大鼠跟腱的生物力学性能的影响	(104)
3.5	低功率激光照射对末端病大鼠跟腱羟脯氨酸的影响	(107)
3.6	低功率激光照射对末端病大鼠跟腱蛋白多糖含量的影响	(108)
3.7	低功率激光照射对末端病大鼠跟腱 <i>Collagen - I mRNA</i> 和 <i>Collagen - I</i> 的影响.....	(110)
3.8	低功率激光照射对末端病大鼠跟腱 <i>Collagen - III mRNA</i> 和 <i>Collagen - III</i> 的影响.....	(114)
3.9	低功率激光照射对末端病大鼠跟腱 <i>TGF - $\beta 1$ mRNA</i> 和 <i>TGF - $\beta 1$</i> 的影响	(117)
3.10	低功率激光照射对末端病大鼠跟腱 <i>MMP - 1 mRNA</i> 和 <i>MMP - 1</i> 的影响	(121)
3.11	低功率激光照射对末端病大鼠跟腱 <i>TIMP - 1 mRNA</i> 和 <i>TIMP - 1</i> 的影响	(124)
3.12	对低功率激光治疗末端病大鼠跟腱研究的一些思考	(127)

第四章	结 论	(128)
-----	-----------	-------

参考文献		(129)
------	-------	-------

缩略词表		(152)
------	-------	-------

攻读学位期间公开发表的论文		(154)
---------------	-------	-------

序 言

研究背景

随着参加体育锻炼和竞技运动的人群日益增多，运动造成的临床损伤也越来越多，其中韧带肌腱损伤占 50% 以上，在运动员中末端病的发病率较高，其好发在四肢远端及关节部位，其中又以跟腱末端病患者居多。跟腱末端区的结构比较复杂，跟腱病变是末端结构的主要病变，由于人们逐渐认识到肌腱具有一定的代谢活动和良好的适应能力，因此通过对肌腱损伤机制的研究，能为肌腱损伤的修复提供重要的理论依据。

目前，跟腱损伤的防治是运动医学领域的热点和难点问题，也是运动创伤学当中一个具有挑战性的问题。由跟腱及其周围组织解剖生理的特点决定了末端病的复杂性及其病变的多样性，使得众多学者对于末端病的认识不一致，因而末端病的发病机制尚无定论。肌腱是乏细胞和乏血管的组织，代谢慢，愈合也较慢，而且通常是疤痕愈合，因此损伤的肌腱可能不能恢复到健康和正常的肌腱功能水平。尽管近年来对肌腱损伤修复的研究有了一定的进展，但在临床上尚未找到预防和治疗肌腱损伤的特效方法，为了弥补肌腱低效率的愈合过程，很多研究者尝试了各种治疗策略。目前对于末端病治疗方法的研究只是停留在药物治疗、理疗和手术治疗阶段，因存在其疗效和应用的方便性等原因，在肌腱损伤治疗上没有表现出显著的优势，而基因治疗、组织工程等新兴的治疗手段还处于实验室研究或临床试验阶段。对于目前的各种治疗方法，到底

有多大的效果,目前仍然不清楚。许多理疗方法用于跟腱的康复,但是这些只是临床上的常规应用,缺乏系统的比较研究。由此选择一种人们普遍乐于接受、疗效显著且稳定、能大大缩短治疗时间的微创甚至无创的治疗方法是十分必要的。

低功率激光是指不引起组织细胞损伤,能对局部和全身起到刺激、调节和活化作用的小剂量激光。低功率激光疗法(low power laser therapy, LPLT)作为一种非侵入性治疗手段,通过光生物调节作用对生物体产生特定的刺激作用,一般不引起温度上升,但能引起某些特定的生物学效应,具有安全、方便、花费少、作用广等优点,目前,已在全世界很多国家应用于临床。研究表明,低功率激光能改善生物体局部血液微循环、镇痛消炎、促进组织修复和再生、并对神经系统有一定的作用,广泛应用于多种急性与慢性损伤、局部炎症和一些皮肤病。在运动医学中,低功率激光对骨、骨骼肌、肌腱损伤有一定的治疗作用,特别是低功率激光对肌腱损伤后的修复具有一定的疗效并且在改善其代谢、镇痛等方面效果较好,但这些研究仅限于不同角度探讨低功率激光对肌腱的作用及其可能机制,对跟腱照射后引起的肌腱内生物力学、生物化学、分子生物学指标变化的研究缺乏报道,针对末端病的治疗的专门研究也未见报道。因此,探讨低功率激光照射跟腱,对末端病所起的影响及其作用,探索跟腱末端病的发病机制,筛选一些与跟腱损伤和修复有关并且有效的指标,探寻一种治疗跟腱末端病科学、合理的方法显得十分必要和急需。

目前对肌腱损伤防治的研究方法是以建立肌腱损伤模型为基础,从现有的研究报道看,大部分是急性运动损伤模型,不符合肌腱运动损伤的实际,因此人们在不断寻找一种更适合于跟腱运动损伤的实验模型,扈盛的电刺激跳跃法能模拟运动员的动作和训练状态,使造模结果与人体末端病最为接近,因此被公认是建立跟腱止点末端病动物模型的有效方法。

本实验以电刺激跳跃法建立的末端病大鼠为研究对象,通过低功率激光照射其跟腱,从组织形态学、生物力学、生物化学、分子生物学等

不同角度和层次,观察低功率激光对末端病大鼠跟腱影响的动态变化,探讨低功率激光对末端病影响及其机制,探索低功率激光在运动医学临床实践中的应用方法,为促进肌腱损伤的恢复提供理论依据。

文献综述

1 跟腱概述

1.1 跟腱的形态学特点

跟腱由小腿三头肌肌腱合成,在跟骨止点上约4cm最窄最厚,向下逐渐变宽变薄。在皮肤和跟腱之间及跟腱和前方脂肪垫之间各有一个滑囊,可减少摩擦。跟腱内胶原纤维集成含血管和淋巴管的类似于神经的束状结构,胶原占其干重的70%,其中95%为I型胶原,余下含少量的弹性蛋白、蛋白多糖。在休息状态下胶原呈波浪状,外力牵拉后平展。肌腱作为一种致密结缔组织,其结构特点是细胞少,基质多,基质中含有胶原、弹性蛋白、蛋白多糖等。肌腱细胞是一种肌腱专有的、形态发生改变的成纤维细胞,呈棱形,细胞核长而着色深,顺胶原纤维的长轴成行排列,细胞质甚薄成翼状包着纤维束,翼突也伸入纤维束内分隔包裹着胶原纤维。胶原纤维新鲜时呈白色、有光泽,又称白纤维,HE染色切片中呈嗜酸性,着浅红色,纤维粗细不等,直径1~20 μm ,呈波浪形,并互相交织,它是由许多直径很细的胶原原纤维聚合而成。电镜下胞质内粗面内质网较丰富,较少线粒体,高尔基体少见^[1]。与此相反,皮肤成纤维细胞胞体较大,扁平,细胞核卵圆形,胞质着色浅,不明显。电镜下胞质内细胞器较肌腱细胞密集。肌腱细胞在损伤后可产生I型和Ⅲ型胶原参与修复,Ⅲ型胶原抗张力较差,因而损伤的肌腱易发生自发断裂。跟腱血液主要由胫后动脉供应,来源包括肌肉肌腱连接

部、周围结缔组织、跟骨-肌腱结合部。跟腱血供较差，特别是跟腱中段，这可能与跟腱易发生退行性变和自发断裂有关。跟腱损伤的机率随年龄而增加，老年人的腱周血流虽在休息时相对较少，但在运动时并不受年龄影响而减少^[2]，因而可能有其他因素使损伤机会增加。

1.2 跟腱的组成

肌腱主要是由长的、彼此平行排列的胶原纤维组成，含有极少量的弹性纤维，在胶原纤维间分散着一些梭形的成纤维细胞，构成了肌腱主要结构，其细胞核长而着色深，顺纤维的长轴方向排列，细胞质变薄成翼状包裹纤维束，翼突伸入纤维束内分别包裹胶原纤维；肌腱的细胞间质一般由胶原纤维和基质两部分组成。基质的主要成分是蛋白多糖，又称黏多糖。

肌腱细胞是肌腱的基本功能单位，它的功能是合成和分泌肌腱胶原纤维和基质，维持肌腱组织的新陈代谢。在肌腱组织中，肌腱细胞与胞外基质之间存在着非常密切的相互关系。肌腱细胞可持续地合成、分泌某些物质，如胶原、可溶性蛋白多糖等，并可降解、吸收基质中的代谢产物，调节着周围的微环境。同时，基质也能有效地影响细胞的代谢、生长、增殖和运动等细胞行为。与成纤维细胞分泌的细胞外基质相比，胶原纤维在肌腱的胞外基质中比例较大，占其中有形成分的70%以上，且特化为抗拉结构。仅有少量纤细的弹力纤维夹杂在胶原纤维之间。而真皮除有胶原纤维束交织成网外，还有许多弹力纤维赋予皮肤较大的韧性和弹性。

1.2.1 胶原纤维

胶原纤维的基本结构物质为胶原，是一种高分子蛋白质，其长链状分子排列成原纤维，后者集合形成细纤维，再束状聚集形成胶原纤维。胶原纤维分为Ⅰ型和Ⅱ型胶原蛋白（简称胶原），由成纤维细胞分泌，胶原的分子单位是原胶原，原胶原分子的成分中以甘氨酸、羟脯氨酸及羟赖氨酸最重要，其中，后者在原胶原分子中约占22%，是胶原中特有的成分，它们在内质网中的羟化酶催化下分别通过前 α -肽链中的脯

氨酸和赖氨酸羟化而来，并受到维生素 C 的调控。

胶原纤维是构成肌腱组织的主要成分，呈束状排列，新鲜状态下，大体观呈银白色。光镜观察，在组织中呈平行波浪状，横断面近似椭圆形。胶原分子的排列方向与韧带和肌腱纵轴一致，便于承受拉力，因此其抗拉性能极强，可承受 $6\text{kg}/\text{mm}^2$ 的拉力，但还有部分纤维束呈扭转或交错排列，防止纤维分离，同时也有利于对来自不同方向的力的缓冲。而真皮组织的胶原纤维排列杂乱无章，向不同方向伸展。

胶原蛋白是一个庞大的家族，种类繁多，结构高度复杂，从分子结构、超分子结构，再到组织分布和功能等，具有显著的多样性。尽管如此，胶原蛋白的基本组成却是大同小异，在氨基酸序列上都含有 $(\text{Gly}-\text{X}-\text{Y})_n$ 重复序列，这些重复序列是构成三聚体结构基础，其中 X 通常为 Pro，Y 通常为 Hy-Pro 或 + Hy-Lys。根据编码基因和肽链组合的不同，目前已经发现有 27 种胶原蛋白，根据序列同源性及结构组成上的相似性，可将其划分为几个亚家族。同类型的胶原的 α 链由各自独立的基因编码。已经明确肌腱组织中含有的胶原有 I 型、V 型^[3]、VI 型^[4]、VIII 型、XI 型^[5]、XII 型^[6]、XIV 型^[7] 和 XX 型^[8]。其中，I 型胶原是肌腱组织的主要纤维性胶原，较粗大，起稳定组织的作用。它在肌腱中形成绳索样结构，在皮肤中则形成片状结构。XII 型、XIV 型和 XX 型胶原是装配在原纤维表面上的胶原，是原纤维结合胶原^[8]，其作用是将原纤维结合起来，参与调节和控制原纤维的形状，使之适应肌腱组织的功能需要。当肌腱受到损伤进行修复时，会出现 III 型胶原的暂时表达^[9]。

1.2.1.1 I 型胶原

胶原属于肌腱细胞外基质，在肌腱中的胶原大部分为 I 型胶原，约占干重的 60%，总胶原的 95%^[7]，另外肌腱中还含有 II、III、IV、X 型胶原等，但这些胶原在肌腱中含量较少。

胶原的基本结构单位是原胶原。原胶原是由三条多肽链盘绕而成的三股螺旋结构，长 300nm，直径 1.5nm。每一条肽链大约含有 1000 个氨基酸残基，这些氨基酸排列较为特别，组成也不同。甘氨酸 (Gly)、

脯氨酸（Pro）、脯氨酸羟化以后的羟脯氨酸（HyPro）和羟赖氨酸（HyLys）共同组成了原胶原分子的一级结构，按照重复序列（Gly - Pro - HyPro/ HyLys）规则的排列，这种排列有着重要的现实意义：使螺旋结构保持稳定。每个原胶原分子通过 N 末端与周围平行排列的原胶原分子 C 末端以共价键加以稳定。

I 型胶原的原胶原分子的一级结构包括 2 个 $\alpha 1$ 亚单位和 1 个 $\alpha 2$ 亚单位，肽链多以重复序列（Gly - Pro - HyPro）组成，其 N 末端和 C 末端不含有该重复序列，但在合成胶原中起重要作用。原胶原的前体叫前胶原（procollagen）。前胶原拥有一个 N 端前肽和 C 端前肽。

胶原是由三条肽链拧成的螺旋形纤维状蛋白质，俗称 3 螺旋结构，每个原胶原分子由三条 α - 肽链组成， α - 肽链自身为 α 螺旋结构，三条 α - 肽链则以平行、右手螺旋形式缠绕成“草绳状”三股螺旋结构。肌腱的成纤维细胞可以合成和分泌胶原。最初是由细胞核内编码 α 链的基因转录，经过剪切和加工形成 mRNA，然后在内质网中去除信号肽，N 端和 C 端各加一段氨基酸序列，即前肽（propeptide），合成前 α 链。前 α 链在高尔基体内选择性糖基化，并互相缠绕形成绳索状的前胶原分子。前胶原分子被分泌到细胞外，遇到了前肽酶，在该蛋白水解酶作用下切去前肽，便形成了原胶原分子，然后通过装配作用将胶原分子组成相应的胶原纤维，最后形成有一定韧性的结缔组织。

从胶原的合成过程来看，前肽会被前肽酶切掉，但它与胶原的合成密切相关，可以反映胶原的合成量，同时胶原的合成量与转录水平的 mRNA 紧密相关，因为蛋白的翻译来自于基因的表达，所以可以用 Collagen - I mRNA 反映 I 型胶原的合成速度。I 型胶原在肌腱细胞外基质中含量最高，构成细胞外基质的骨架结构、具有很高的抗张强度、可以与细胞外基质中的其他成分（如蛋白多糖）结合形成结构和功能的复合体。

胶原蛋白是由 18 种氨基酸组成的，羟脯氨酸只是这 18 种氨基酸中的一种。但因为其在其他一些普通的蛋白中比较少见（如大豆蛋白），所以可作为特征性的氨基酸之一，羟脯氨酸在胶原蛋白中占 13% 左右，

它与 I 型胶原密切相关, 因为氨基酸残基参与构成原胶原分子的一级结构, 所以羟脯氨酸含量的变化可以反映跟腱中胶原代谢情况。

I 型胶原是肌腱细胞外基质强度的重要承担者, 其含量占总胶原的 95%^[10,11]。因此 I 型胶原的代谢水平可反应肌腱损伤修复的情况。在任洪峰的研究中跑台训练后豚鼠跟腱的胶原 I 含量增加, 随之也提高了肌腱的强度^[12]。

胶原的半衰期为数周或数年不等, 转换速率较慢, 而且在不同组织中转换速率不同, 其中牙龈、皮肤中的胶原转换稍快, 肌腱中的胶原转换最慢。在损伤后的恢复过程中, 转换速率会有一定的加快^[13]。

胶原可以被胶原酶特异性降解, I 型胶原的胶原酶是基质金属蛋白酶 - 1 (matrix metalloproteinases - 1, MMP - 1)。有研究标明, 当肌腱损伤或断裂时, 可见 MMP - 1 表达增加。Fu 等^[14]发现人体的髌肌腱损伤后, MMP - 1 表达增加, TIMP - 1 表达降低。

胶原代谢依赖于腱细胞, 在末端病发生时, 跟腱内的腱细胞大量凋亡^[15], 这可能是胶原代谢降低的原因之一。在恢复期中, 跟腱内血液微循环增强, 伴随着腱细胞的凋亡减少, 数量增多, 活性加强, 胶原合成会增加, 有利于胶原代谢。

1.2.1.2 III 型胶原

III 型胶原由三条 $\alpha 1$ - 肽链组成, 即 $[\alpha 1 (\text{III})]_3$, $\alpha 1 (\text{III})$ 链中含有半胱氨酸, 因而肽链之间存在着少量的双硫键, 其本身可以形成细纤维, 而其他类型的胶原肽链间的共价交联键主要是由赖氨酸残基或羟赖氨酸残基的侧链形成。III 型胶原分子非螺旋区的重要特征也与 I 型胶原一样, $\alpha 1$ - 肽链 N 末端第 9 位是赖氨酸残基, C 末端第 16 位也是赖氨酸残基。

肌腱中胶原 III 的含量很少, 不足 10%, 其形成的纤维较细但弹性较高。肌腱中胶原 III 主要分布在腱内膜和腱鞘, 然后在承受高应力肌腱的附着处会有胶原 III。研究表明^[16], 在胚胎和肉芽组织中发现有高比例的 III 型胶原纤维, 所以在某种程度上 III 型胶原被认为是不成熟的胶原组织, 属重建型胶原。李敏^[17]的研究发现, 急性运动可使 III 型胶原合

成在转录水平上上调,表明快速形成胶原纤维是跟腱对负荷的一种应激反应。另有研究发现大鼠在训练早期胶原Ⅲ含量增加,而且运动负荷越大,胶原Ⅲ的含量增幅越大^[18,19]。因此胶原Ⅲ可能在肌腱的适应过程中具有重要的作用。

1.2.1.3 胶原原纤维的组成

胶原纤维的直径以其中所含胶原原纤维的多少、粗细而定。原纤维的直径随其所在组织的不同而异。肌腱的原纤维可比角膜中的原纤维粗约20倍。高负荷力的组织中原纤维比较粗,其负荷力的大小与原纤维粗细成正相关。另外,影响原纤维粗细的因素还有糖基化程度(越细的原纤维其糖基化程度越高)、原纤维表面是否存在较小的胶原分子、胶原分子末端是否存在较长的肽链、周围蛋白多糖的类型和浓度。

肌腱细胞胶原纤维的组成需经过三个过程:胶原原纤维阶段、原纤维束阶段、组织特异性聚合体阶段^[20]。在肌腱的形成过程中,细胞外部按不同等级分成了许多胞外分隔,它代表了胞质成分向胞外空间的延伸。原纤维的组装发生在细胞表面的胞外分隔中。初级分隔是一系列较窄的通道,包含单根或成组的原纤维。这些原纤维被胞膜包绕且深入胞浆内部,远端与胞外区域相通。这些较窄的通道相互从侧面融合形成第二级划定分隔。在第二级分隔中,原纤维单体相互以添加融合或相似融合的方式^[21]形成原纤维束。这种排列方式的形成原因在于:只有如此程度的重叠才能使相邻胶原分子的氨基酸相互作用而形成稳定状态。在电镜下明显可见64~70nm左右的周期性横纹结构。从横切面看是圆形结构,从纵切面看为两端逐渐变细的尾状结构。Scott(1984)提出通过decorin的表面包被可以促使原纤维融合过程发生。第三级分隔是由并联的两个或三个细胞来确定界限。在其中,原纤维束相互之间以融合或接合方式聚合成聚合体。第三级分隔相互交叉,部分区域相邻,部分区域相通。

1.2.1.4 胶原纤维的生物力学

胶原纤维为黏弹性体,有明显的滞后和应力松弛特性。研究发现,肌腱胶原含量的增加会增加肌腱的生物力学性能。Hunt等^[22]报道犬髌

肌的胶原含量与弹性模量成正比。

不同的胶原类型表现出的生物力学性能也不同。组成肌腱的主要 I 型胶原分子具有小的弹性和高的强度。胶原 III 形成的纤维比胶原 I 细小，因而不能承受强大的外力牵引，但其弹性要比胶原 I 要大。

胶原纤维的结构也与肌腱的生物力学性能有关。首先胶原纤维的粗细表现出其性能的差别，Parry 等^[23]的研究表明，大直径的胶原纤维具有较高的拉伸强度。但也有研究发现，肌腱极限拉伸强度和弹性模量与长度的关系更为密切^[24]。其次胶原纤维的卷曲角度不同其肌腱的应力水平也不同，研究结构显示具有较小卷曲度的原纤维束能承受的应力较大。再次胶原纤维之间的交联水平也影响肌腱的力学性能，Silver 等的研究发现，交联增加间了黏弹性行为中弹性的比例，而粘性部分测降低^[25]。

1.2.1.5 胶原纤维的合成和重塑

胶原纤维是经多步骤过程装配而成，包括胶原分子的合成、分泌和修饰等步骤。胶原分子的多肽链是在内质网膜结合的核糖体上合成的，最初合成的多肽链为前 α 链。在内质网腔中，前 α 链与其他两条前 α 链通过氢键相互结合，构成了三股螺旋的前胶原分子。此分子的装配起始于内质网，后经高尔基体装配完成，被包装到分泌泡中，分泌到细胞外。前胶原分子分泌到细胞外之后，前肽序列被专一的蛋白水解酶切除，于是前胶原转变成了胶原分子。相邻的胶原分子在细胞外经赖氨酸残基横联成共价键，相互以四分之一错位排列的方式装配成了胶原原纤维。如果横键的建立受阻，则原纤维的张力强度大大下降。跟腱中横键特别丰富，具有很强的抗张能力，适应于支撑体重和进行剧烈运动。

1.2.2 细胞外基质

肌腱细胞的胞外基质主要由不溶性胶原蛋白、弹性蛋白、原纤维和可溶性蛋白聚糖构成，基质的存在使纤维便于在应力的影响下调整其排列关系，可有效地分散肌腱组织的张力和重力，维持肌腱结构的正常形态，为包埋在基质中的肌腱细胞提供适宜的物理和化学环境，因而被认为对肌腱的力学特性也有一定贡献。肌腱细胞合成的基质主要成分为蛋

白多糖，是蛋白质与多糖以共价键的形式连接而成的巨大分子，主要是以多糖链的形式组成其分子。蛋白质部分所占比例较小。往往一条多糖链上联结多条多肽链，分子量可达数百万以上。

1.2.2.1 蛋白多糖化学结构

蛋白多糖中的多糖链为杂多糖，因其组成成分中均含氨基己糖，所以称为氨基多糖或胺聚糖，又称为黏多糖。它主要包括透明质酸、硫酸软骨素、硫酸角质素、肝素、装饰蛋白（decorin）、粘胶蛋白（tenascin）和纤维调节素（fibromodulin）等，并可形成多孔的分子筛，营养物质和代谢产物可自由通过。Decorin 可以阻止胶原原纤维形成，通过下调 decorin 的表达，可在兔韧带疤痕中重建粗大纤维^[26]。Tenascin - c 能使肌腱细胞适应压力。Fibromodulin 起稳定纤维中成熟的原纤维的作用。Maria 等^[27]研究与胶原原纤维生长有关的 26 个的 cDNA 片段，发现上游结构蛋白 $\alpha 1$ (I) collagen、 $\alpha 2$ (I) collagen、 $\alpha 1$ (XI) collagen、 $\alpha 1$ (VI) collagen 和 fibromodulin 表达增加。各种糖胺多糖的结构单元为二糖单位，含有乙酰氨基己糖和糖醛酸。蛋白多糖为“瓶刷状”分子结构，其蛋白多糖亚单位（“刷毛”）非共价附着于透明质酸主链上，其间相隔 200 - 300Å。蛋白多糖的分子结构蛋白多糖亚单位由一个核心蛋白（core protein）和共价连接其上的糖胺多糖组成，后者主要为硫酸角质素和硫酸软骨素。人体核心蛋白及多糖组成的亚单位可分为三区：（1）n - 端区：包括球状连接区，含有较少的寡糖链。（2）富含寡糖区：为硫酸角质素寡糖链的主要附着区。（3）c - 末端区：富含硫酸软骨素。通过半乳糖、半乳糖和木糖三糖连接于核心蛋白的丝氨酸残基。蛋白多糖的透明质酸主链长度为 4000 ~ 40,000，可附着上百个核心蛋白，每条核心蛋白可结合 50 条硫酸角质素链和 100 条硫酸软骨素链，由此可见蛋白多糖分子巨大，分子量可高达数千万。

1.2.2.2 蛋白多糖的生理功能

蛋白多糖分子大，具高度亲水性，对保持结缔组织水分及与组织间物质交换均有重要作用。因此它可保持软骨、肌腱组织中胶原纤维有规律的排列，间隙中填充蛋白多糖，吸附大量水分，缓冲运动中所受的挤

压。也有利于关节软骨、肌腱供血不足组织的营养物质的交换。蛋白多糖有较大的黏滞性,能缓冲组织之间的机械摩擦,因而具有润滑、保护作用。蛋白多糖还与创伤的愈合亦有密切关系。如促进皮肤创伤的愈合等。

1.2.2.3 蛋白多糖的生物合成

蛋白多糖的合成是在核糖体上合成多肽,并分泌入内质网中,在内质网中修饰过程中,由相应的转移酶催化活性单糖转移到氨基酸的侧链上,合成氨基多糖。但糖链的延伸和加工修饰在高尔基体进行。

1.2.2.4 蛋白多糖的分解代谢

结缔组织基质中的蛋白多糖主要受组织蛋白酶 d 等的作用,部分肽链水解产生的带多糖链的小片段可被细胞吞噬,进而在溶酶体中逐步水解成各种单糖及其衍生物。

1.2.2.5 蛋白多糖对肌腱胶原修复的作用及可能机制

蛋白聚糖作为肌腱中含量最高的蛋白多糖,是纤维性组织和胞外基质 (ECM) 的一种重要成分。它对肌腱胶原修复的作用主要是通过 TGF 的调节和抑制胶原纤维的形成等机制来实现的。首先是蛋白多糖能负性调节 $\text{TGF}-\beta$ ^[28]。近年来,随着人们对细胞因子在肌腱愈合中的研究深入,发现不同的细胞因子在不同时间和不同肌腱愈合位点起着不同的作用,调节肌腱的愈合的时间,方向以及愈合质量,而其中的 $\text{TGF}-\beta$ 认为在肌腱愈合中发挥着关键性的作用。Klein 等^[29]研究发现在兔腱鞘,腱外膜、腱内膜细胞培养中, $\text{TGF}-\beta_1$ 、 β_2 、 β_3 都可以使肌腱中最主要的 I 型胶原产量明显增加,细胞数量变化不明显。Flanagan^[30]等通过对羊胚胎肌腱损伤模型研究发现胚胎肌腱损伤后 $\text{TGF}-\beta_1$ 及其 mRNA 含量明显低于成年组织,且无疤痕,这显示胚胎的无疤痕愈合可能就是这种低浓度的 $\text{TGF}-\beta_1$ 引起的。Zhang 等^[31]人研究表明在腱细胞的培养中加入 $\text{TGF}-\beta$ 中和其抗体,能明显减少 $\text{TGF}-\beta$ 诱导的 I 型胶原的生成,这提示 $\text{TGF}-\beta$ 抗体可以阻断肌腱愈合中 $\text{TGF}-\beta$ 的作用,减少组织纤维化,减少疤痕形成。Chang 等^[32]直接用 $\text{TGF}-\beta_1$ 抗体导

人兔屈损伤肌腱后发现起愈合能力增强,证明了抑制 TGF- β 可促进肌腱愈合。因而蛋白多糖作为一种体内天然的 TGF- β 负性调节因子,通过与 TGF- β 的受体竞争性结合,起到抗纤维化作用,表明蛋白多糖能减少肌腱愈合中疤痕形成,促进愈合,提高肌腱功能恢复的效果。其次,蛋白多糖抑制胶原纤维的形成,促进肌腱按照应力方向的重建。蛋白多糖是富含亮氨酸的小分子的蛋白聚糖家族 (SLRPs) 中的一员。其主要分布在肌腱的细胞外基质,由于电镜下显示其在胶原网络中能够修饰胶原纤维,故又称为饰胶蛋白聚糖。蛋白多糖能够通过其位于核心蛋白中心区域上游的半胱氨酸的结合位点和胶原 I、II、III、V、VI、VII、XII 作用,抑制胶原的纤维化,防止疤痕形成,促进肌腱的愈合。Rees^[33] 等对牛肌腱中蛋白多糖分解代谢研究发现:蛋白多糖能与 I 型胶原的三股螺旋每个 D 区 d 带部位结合,促进原纤维侧面结合以形成纤维和纤维束,调节胶原纤维的成熟,并确定组织中胶原原纤维的精确的布局,产生优势条件下最佳的胶原纤维。Redaelli 等^[34] 发现糖胺聚糖链构成胶原原纤维中连接原纤维的桥梁,提示糖胺聚糖链可能在原纤维中起着传导力量和促进肌腱结构完整的作用。Nakamura 等^[35] 利用蛋白多糖的基因疗法可提高兔韧带损伤模型中早期疤痕中胶原原纤维形成及增加抗拉力,也表现出促进肌腱组织愈合的作用。

1.3 跟腱的功能

跟腱附着在跟骨的跟骨结节部位,在人体作站立、行走,跑跳各种动作中,跟腱在小腿三头肌收缩力作用下,给予跟骨不同的拉力。当人体做剧烈活动时,跟腱的拉力可达人体几倍的重量。肌肉产生的收缩力量决定于它的生理横截面积,面积越大,收缩产生的力值越高,因而通过肌腱传递的拉伸载荷也越大。同样,肌腱的横截面积越大,能承受的载荷也越大。通常大肌肉常有大横截面积的肌腱,小腿三头肌的跟腱就是有大横截面积的肌腱。运动创伤中常见的跟腱断裂和跟骨结节撕脱骨折就是由于较大的跟腱牵拉所致。