

# Hamstring 腱在体内重塑与转归的组织学研究

夏春 张兵 周江南 胡海 陈国能 付日斌

**【摘要】** 目的 探讨游离 Hamstring 腱作为替代腱重建前十字韧带 (anterior cruciate ligament, ACL) 后在体内的重塑与转归过程, 初步确定其术后在体内成熟的时间。方法 33 例关节镜下自体同侧游离 4-5 股 Hamstring 腱重建 ACL 的患者在行关节镜下再视手术时, 于移植腱体中下段取活检组织进行组织学观察。重建术至再视手术的平均时间为 11.9 个月。替代腱依据重建术至再视手术的时段分为 1 月~4 月~7 月~10 月~13 月~18 月~和 25 月~组。将替代腱与正常 ACL 和半腱肌腱组织进行对比。结果 重建 ACL 的 Hamstring 腱随植入时间延长, 组织结构呈现其胶原纤维由不规则排列逐步向同向排列, 排列不规则的菱形成纤维细胞逐步向较规则排列的椭圆形类纤维细胞转变, 且细胞数目逐渐减少, 血管腔数目也不断减少。上述的重塑变化主要发现在 7 月~组以前, 其后各组重塑变化过程缓慢。结论 自体游离 Hamstring 腱重建 ACL 术后具有良好的早期存活、加快再血管化和重塑过程的组织特性。其术后的重塑与成熟过程与自体髌腱相似, 自体 Hamstring 腱在体成熟的时间为 7-9 个月。

**【关键词】** 前交叉韧带; 修复外科手术; 组织学; 关节镜检查

Histological study on remodeling and maturation of hamstring autograft in postoperative patients XIA Chun\*, ZHANG Bing, ZHOU Jiang-nan, et al. \* Department of Orthopaedics, Zhongshan Hospital of Xiamen University, Xiamen 361004, China

**【Abstract】** Objective To probe into the remodeling and maturity process along with extension of time in anterior cruciate ligament (ACL) reconstruction with hamstring autograft in order to confirm the date of maturity postoperatively. Methods Thirty-three patients after arthroscopic ACL reconstruction with hamstring autograft, were undergone second-look arthroscopical surgery. Meantime, biopsy specimens were obtained from the mid-zone of the hamstring graft. As a control group, specimens of normal ACL were obtained from total knee replacement of four cases, and specimens of semitendinous tendons obtained from ACL reconstruction of the four cases. The interval from initial reconstruction to second-look arthroscopy ranged from 2 to 36 months (mean 11.9 months). Patients were divided into different groups by postoperative time such as 1-, 4-, 7-, 10-, 13-, 18- and 25- month group. Thirty-three specimens were ordinarily sliced up into longitudinal sections. The sections were stained with hematoxylin and eosin so that cell and collagen fibrils were observed under light microscope, then compared the results with those of control group. Results Under microscopical observation, it was showed that tissue of hamstring graft was remodeled from more blood vessels and cellular amount to normal one, and from an irregular orientated crimp pattern of collagen to regular orientated crimp pattern of collagen in a time-dependent manner. Decreasing cellular amount, changing cell type, and a regular orientated crimp pattern of collagen of the hamstring graft were observed in 7- month group primarily, comparing with the original ACL. However, there existed a slower process in the other groups that are older than that of 7- month. Conclusion There are well histological features in the process of remodeling and maturation of the hamstring autograft after operation following extension of time, such as better survival of early period, and remodel of vessels and collagen. The process of remodeling and maturation in the hamstring autograft is similar to BPB autograft. The maturation period of the hamstring autograft after ACL reconstruction in human patients appears between 7 month and 9 month postoperatively.

**【Key words】** Anterior cruciate ligament; Reconstructive surgical procedures; Histology; Arthroscopy

关节镜下前十字韧带 (anterior cruciate ligament, ACL) 重建术已成为治疗 ACL 损伤的最主要

作者单位: 361004 厦门大学附属中山医院骨科 (夏春、胡海、陈国能、付日斌); 厦门大学医学院 (张兵); 长沙, 中南大学湘雅医院骨科 (周江南)

的术式。自体多股 Hamstring 腱重建 ACL 手术越来越广泛地应用于临床<sup>[1,2]</sup>。Hamstring 腱指游离半腱肌腱和股薄肌腱或单根肌腱反复折叠为多股而成的集合体。然而, 有关 Hamstring 腱关节镜下重建 ACL 植入体内后的重塑与成熟的研究很少, 这对 Ham-

string 腱重建 ACL 术后的康复训练, 确定重返工作和活动的时间, 以及预防术后替代腱断裂等方面均有影响。ACL 重建术后, 由于胶原纤维替代物的重塑和成熟过程漫长, 所以每例 ACL 重建术后患者都有 1 年以上的被指导过程, 所以了解替代腱植入体内的重塑与成熟过程十分必要。

## 资料与方法

### 一、一般资料

选择自 2002 年 3 月至 2003 年 11 月 33 例关节镜下自体同侧游离 4-5 股 Hamstring 腱重建 ACL 的患者, 男 21 例, 女 12 例; 年龄 16-62 岁, 平均 29.1 岁。行关节镜下再视手术, 并取活检研究其重塑与成熟过程。重建术至再视手术的时间为 2-36 个月, 平均 11.9 个月。再视手术的主要原因为取金属内镶钉和治疗新出现的半月板破裂。本组均为单侧 ACL 重建术后患者。

### 二、关节镜再视手术

在告之患者并征得同意取组织活检的情况下, 取髌前下内、外侧原切口, 插入关节镜。于关节镜下观察与探查关节内所有组织后, 剥去局部表面滑膜(如有)暴露腱体, 在重建的 ACL 组织中下部取 6 mm<sup>3</sup> 大小的组织块。取活检的原则是在不破坏整体结构的前提下, 尽量取中段和深层组织。取出的组织块用 5 ml 体积分数 10% 的甲醛固定。对关节内其他异常的组织(如破损的半月板或软骨等)给予适当的处理与治疗。先取出股侧内固定钉, 再取出胫侧内固定钉。术后第 4 天左右可以下地行走。

### 三、分组

根据功能锻炼和活动水平的实际情况, 并参考相关文献<sup>[3-6]</sup>, 依据重建术后时间分组。1 月~组 2 例, 4 月~组 7 例, 7 月~组 5 例, 10 月~组 7 例, 13 月~组 4 例, 18 月~组 5 例和 25 月~组 3 例。

### 四、对照组织的活检

(一) Hamstring 腱组织块: 分别在 4 例 Hamstring 腱重建 ACL 术中取材, 男 3 例, 女 1 例; 年龄 21-33 岁。组织块的取材均为半腱肌腱的中远段腱体组织, 大于 20 mm<sup>3</sup>, 用 5 ml 体积分数 10% 的甲醛固定。

(二) ACL 组织: 分别在 4 例骨性关节炎全膝人工关节置换术中取材, 均为女性, 年龄 58-66 岁。切取 ACL 中段组织块, 同上方法固定。

### 五、光学显微镜的标本制作与观察

将术中切取的 33 例 Hamstring 腱重建十字韧

带组织标本、对照组 4 例 Hamstring 腱和 4 例 ACL 组织标本, 按常规石蜡切片方法制作, 纵向切片, HE 染色。

## 结果

正常 ACL 与 Hamstring 腱(半腱肌腱)组织学特征类似: 组织胶原量大, 胶原纤维呈紧密束状同向规则排列, 同向波纹明显, 在规则的胶原纤维中有散在排列的细胞。纤维束间多见细胞分布, 呈线性同轴性排列, 细胞主要为椭圆形纤维细胞, 成纤维细胞少见, 偶见细血管腔。

重建的替代腱移植后组织结构变性, 血管长入, 成纤维细胞增加, 胶原纤维由少到多, 由不规则到规则致密, 但未观察到坏死区(图 1, 2)。到 7 月~组时组织致密性良好, 胶原纤维量多, 胶原纤维呈现规则同向排列, 纤维同向波纹明显, 在较规则排列的胶原纤维中细胞明显减少, 接近正常 ACL 细胞数目, 细胞呈同向和略带线性排列, 其间少有血管, 与 ACL 组织特征相似(图 3)。此后, 移植组织不断地改建成更加接近正常 ACL 的组织特征, 但其组织学改建过程与变化极为缓慢(图 4-6)。在 18 月~组及 25 月~组还出现了移植腱组织致密性下降、组织易分离现象(表 1)。

## 讨论

ACL 重建手术就是通过放置一种能在体内长期存活并能重塑成良好组织结构的胶原纤维性替代物, 达到限制胫骨前移的目的。替代材料在体内重塑与成熟的快慢直接关系到术后早中期康复训练和活动水平, 以及中晚期疗效。自体替代材料在活体内重塑与成熟过程的资料主要来自于髌腱-骨移植后的动物实验和关节镜下再视研究。这些研究资料表明: 植入后替代材料经缺血性坏死、滑膜长入和再血管化、细胞(成纤维细胞为主)再生、胶原形成、重塑及成熟等过程, 此过程极为漫长, 一般需要 1 年以上<sup>[3,4]</sup>。因此, ACL 重建术后有一个 1 年以上漫长的术后指导时期, 主要为预防术后替代腱的松弛和断裂。而 Hamstring 腱重建 ACL 后组织学变化与髌腱-骨移植后的变化过程是否一致尚待观察。

Goradia 等<sup>[6]</sup>观察了羊的双股 Hamstring 腱重建 ACL 的自然变化过程, 通过对术后 4、8、12、24 和 52 周的组织学观察, 发现在植入后 4 周替代腱的中央区细胞减少, 但无坏死区存在, 成纤维细胞比 ACL 或 Hamstring 腱中的成纤维细胞体积大 6-8 倍, 组

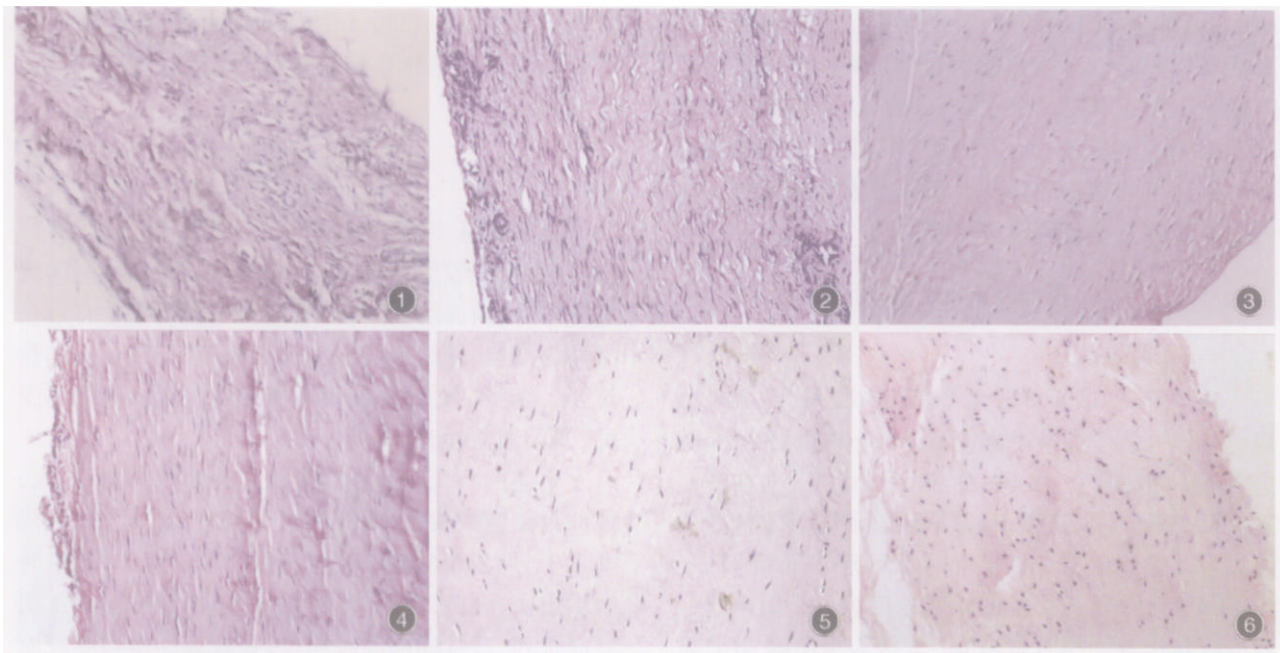


图 1 1 月~组, 移植腱组织呈现胶原纤维不规则排列, 仅区域性同向排列的胶原纤维呈波纹状, 细胞量大, 形态各异, 菱形的成纤维细胞居多, 有丰富的血管腔 HE  $\times 200$  图 2 4 月~组, 组织中胶原纤维明显增多, 组织结构致密, 胶原纤维呈一定的同向规则排列, 成纤维细胞也趋于同向, 其间可见血管腔, 重塑不均, 已出现 ACL 的组织学雏形 HE  $\times 200$  图 3 7 月~组, 组织致密性更好, 胶原纤维增多, 细胞少, 椭圆形类纤维细胞增多, 胶原纤维呈现规则同向波纹状排列, 其间少有血管, 与 ACL 组织学特征相似 HE  $\times 200$  图 4 10 月~组, 与 7 月~组的组织学表现近似, 只是组织致密性更好 HE  $\times 200$  图 5 13 月~组, 组织致密性好, 胶原纤维呈现规则性同向波纹状排列, 细胞明显减少, 椭圆形类纤维细胞为主 HE  $\times 200$  图 6 25 月~组, 组织致密性下降, 组织易分离, 胶原纤维规则同向波纹状排列明显, 细胞少, 圆形纤维细胞为主, 成纤维细胞罕见 HE  $\times 200$

表 1 各组主要组织学表现

| 组别     | 血管腔 | 胶原排列          | 胶原同向波纹 | 细胞数量 | 细胞类型          |
|--------|-----|---------------|--------|------|---------------|
| 正常 ACL | 偶见  | 致密, 束状, 整齐    | 明显     | 少    | 纤维细胞          |
| 半腱肌腱   | 偶见  | 致密, 束状, 整齐    | 明显     | 少    | 腱细胞           |
| 1 月~   | 丰富  | 疏松, 紊乱        | 偶见     | 丰富   | 多种细胞, 成纤维细胞为多 |
| 4 月~   | 较常见 | 较紧密, 不整齐      | 可见     | 较多   | 成纤维细胞为主       |
| 7 月~   | 少见  | 致密, 较规整       | 明显     | 较少   | 纤维细胞居多        |
| 10 月~  | 少见  | 致密, 较规整       | 明显     | 较少   | 纤维细胞为主        |
| 13 月~  | 偶见  | 致密, 较规整       | 明显     | 少    | 纤维细胞为主        |
| 18 月~  | 偶见  | 较致密, 可分离, 较规整 | 明显     | 少    | 纤维细胞为主        |
| 25 月~  | 偶见  | 较致密, 可分离, 较规整 | 明显     | 少    | 纤维细胞为主        |

织学显示替代腱组织有明显的高血管化现象, 滑膜出现, 有 1~2 层立方柱状上皮细胞厚度。植入后 8 周, 组织中有大量的随意排列的成纤维细胞和胶原纤维, 反应性增生的滑膜层有 2~3 层立方上皮细胞。12 周以后中央部的纤维排列由不规则逐渐转向同向规则排列。24 周时出现一层滑膜包被, 菱形细胞增多, 胶原结构良好, 中央与周边部已无法分辨; 偏振光镜下近一半的纤维表现为类似正常 ACL 的均匀正弦波样。52 周时进一步成熟。因此, 他们认为 Hamstring 腱重建 ACL 术后的重塑与成熟过程与髌腱相同, 成熟时间应为术后 1 年以上。

然而, Blickenstaff 等<sup>[7]</sup>用兔半腱肌腱重建 ACL 后发现, 在 26 周时替代腱即已出现同向排列的纤维束, 39 周时组织学表现与正常 ACL 组织难以区分, 52 周与 39 周时的组织学表现无明显变化。徐雁等<sup>[8]</sup>的实验研究也证实了多束 Hamstring 腱重建 ACL 术后第 3 周时, 各束移植物内部细胞消失, 呈坏死状, 表面有滑膜覆盖, 边缘已有细胞开始向中心长入, 各束之间界限清晰可见。第 6 周时移植物表面滑膜增生明显, 可见束间表面部分间隙被滑膜填充, 有些间隙已经融合, 变得不明显。整个移植物未呈现单束移植物塑形改建过程中表现出的明显的周围向中央推

进的形态。各束细胞长入的程度也不相同,有的已经全部有细胞长入,有的仍呈部分无细胞状态。12周时,各束之间改建塑形的程度也不十分同步,有融合,也有未融合部分,但各束改建塑形的程度及纤维排列方向较一致。26周时,整体上各束的改建塑形程度基本一致,组织内细胞数量进一步减少,胶原排列及束间内部形态改建塑形已呈现出正常 ACL 的结构。52周时移植物内细胞形态、数量及纤维走行更接近正常 ACL。Scranton 等<sup>[9]</sup>用羊的四股半腱肌腱重建 ACL,在 6、12 和 26 周分别进行移植腱的组织学、免疫组化和电镜观察,并与人体的关节镜再视观察和全膝置换术所获取的 ACL 组织进行对比。结果显示,重建组织瘤样再生血管、韧带化和与骨交接部的骨化均存在;电镜下观察到的胶原纤维合成增加现象表明成肌细胞介导了韧带化过程,这些成肌细胞在动物韧带化过程与未成熟的重建 ACL 中均能看到;术后 6 个月时,羊的重建 ACL 在肉眼、组织学和免疫组化方面均与正常 ACL 相似。这些动物实验研究表明,Hamstring 腱移植比髌腱-骨移植在体内变化和成熟过程快,其成熟时间为植入后 26~39 周左右。

本研究显示:在 1 月~组,组织呈现胶原纤维不规则排列,组织中有大量的细胞,形态各异,以菱形的成纤维细胞居多,成纤维细胞不同向,未见组织坏死迹象,有大量血管腔存在,这表明 Hamstring 腱植入体内后已早期存活。4 月~组,Hamstring 腱的血管逐渐减少,组织中许多区域的纤维显示出同向正弦波纹。在 7 月~组,移植 Hamstring 腱组织致密性更好,胶原纤维相对增多,胶原纤维同向波纹状明显,在较规则排列的胶原纤维中细胞数量明显减少,其中椭圆形类纤维细胞增多,细胞呈同向和略带线性排列,其间少有血管,这已接近正常 ACL 组织特征。此后各组替代腱的组织学表现相似,重塑减缓,表现为成熟的结缔组织结构。可见,Hamstring 腱在关节镜下重建十字韧带后在人体内的组织学重塑与成熟过程,总体上与髌腱植入后的组织学变化以及 Hamstring 腱重建 ACL 的动物实验观察相似,且组织学成熟时间应在 7~9 个月。其成熟改建比髌腱快的原因可能与多股 Hamstring 腱每股直径小、股数多、表面积大,可为滑膜及血管长入提供多通

道,从而加速了其早期成活与改建过程有关。

在人体内对 Hamstring 腱进行取材困难,取材大小有限。其截面积是 10 mm 宽髌腱的 2.1 倍,而 10 mm 宽髌腱骨的截面积为 30~50 mm<sup>2</sup><sup>[10]</sup>。故本组在替代腱表面活检 6 mm<sup>3</sup> 大小的组织块,对重建的 ACL 不会造成明显的损伤。有研究表明<sup>[3,5]</sup>:自体替代腱中央区再血管化与细胞化后,其表面的活检组织可以代表替代腱整体变化规律,大约术后 12 周以后替代腱的外周与中央区组织学表现类同,可见 4 月~组及其以后的各组活检组织能代表替代腱整体变化规律。但总的来讲,本组病例数有限且分组较粗,其结果难以完全反映 Hamstring 腱重建 ACL 在体变化的全过程。

#### 参 考 文 献

- 1 夏春,周江南,胡海,等. 关节镜下半腱肌腱与股薄肌腱重建前交叉韧带的临床应用. 中华骨科杂志, 2003, 23: 392-395.
- 2 Toritsuka Y, Shino K, Horibe S, et al. Second-look arthroscopy of anterior cruciate ligament grafts with multistranded hamstring tendons. Arthroscopy, 2004, 20: 287-293.
- 3 Falconiero RP, DiStefano VJ, Cook TM. Revascularization and ligamentization of autogenous anterior cruciate ligament grafts in humans. Arthroscopy, 1998, 14: 197-205.
- 4 Rougraff BT, Shelbourne KD. Early histologic appearance of human patellar tendon autografts used for anterior cruciate ligament reconstruction. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc, 1999, 7: 9-14.
- 5 Unterhauer FN, Bail HJ, Hoher J, et al. Endoligamentous revascularization of an anterior cruciate ligament graft. Clin Orthop Relat Res, 2003, (414): 276-288.
- 6 Goradia VK, Rochat MC, Kida M, et al. Natural history of a hamstring tendon autograft used for anterior cruciate ligament reconstruction in a sheep model. Am J Sports Med, 2000, 28: 40-46.
- 7 Blickenstaff KR, Grana WA, Egle D. Analysis of a semitendinosus autograft in a rabbit model. Am J Sports Med, 1997, 25: 554-559.
- 8 徐雁,敖英芳,于长隆,等. 四股半腱肌腱重建兔前交叉韧带束间结构转归过程的实验研究. 中国运动医学杂志, 2005, 24: 517-520.
- 9 Scranton PE Jr, Lanzer WL, Ferguson MS, et al. Mechanisms of anterior cruciate ligament neovascularization and ligamentization. Arthroscopy, 1998, 14: 702-716.
- 10 West RV, Harner CD. Graft selection in anterior cruciate ligament reconstruction. J Am Acad Orthop Surg, 2005, 13: 197-207.

(收稿日期: 2006-01-13)

(本文编辑: 马宏宸)