DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.02.006

无滑膜肌腱滑膜化的实验研究及其意义*

张正治 刘正津 糜建红 (第三军医大学基础部解剖学教研室) 630038
宋一平 (解放军第97医院骨科) 221004

提 要 将家兔和胎儿的鞘外无滑膜肌腱段分别放入膝关节腔内进行在体肌腱培养和体外与滑膜细胞联合培养。结果显示:在体培养的肌腱段表面出现了光滑的,具有滑膜组织形态结构的特征,游离于关节腔内,无粘连发生;体外与滑膜细胞联合培养的胎儿肌腱段表面,被滑膜细胞爬行并覆盖。实验表明:无滑膜肌腱在滑液环境中可向有滑膜肌腱转化,并且可以通过体外培养进行滑膜化改造,使之滑膜化。

关键词 腱;滑膜;组织培养;兔
中图法分类号 R322.74

七十年代中期,Eiken、Lundborg等建立了密封的滑液鞘室和膝关节腔对有滑膜肌腱段进行"在体组织培养"(tissue culture in situ)的实验动物模型[1]。在此模型基础上其他作者所作的一系列实验结果都进一步证实了:在无血供、完整的滑液囊内,仅有滑液提供营养,肌腱段不仅能存活,而且断端有腱细胞(被认为是成纤维细胞)增生形成帽状突起,肌腱游离于滑膜腔内,不产生粘连[2,3]。人们早已认识到,滑液囊有良好的防粘连作用[1]。1990年,作者曾对屈肌腱与腱滑液鞘的血供进行研究,发现屈肌腱的有滑膜段和无滑膜段在形态结构、营养方式和力学环境都有很大的差异[4]。设想无滑膜肌腱放入"在体组织培养"的特殊环境中会有什么影响?能否通过人工方法,将无滑膜肌腱改造成为有滑膜肌腱?为此,我们将无滑膜肌腱段分别进行了在体培养和与滑膜细胞体外联合培养的实验形态学研究。

1 材料和方法

1.1 无滑膜肌腱段在体培养

用体重2.2~3.5 kg的杂种家兔28只,雌雄不限,分成7个时相组,每组4只。在无菌动物手术室内,从左前肢足掌第二趾正中至足掌中部切开皮肤、浅筋膜及腱鞘。分别切取趾深屈肌腱在鞘内的有滑膜肌腱和鞘外的无滑膜肌腱各一段,长约1 cm。然后经膝关节的外侧,切开膝关节腔,将无滑膜肌腱放入右侧膝关节腔内。有滑膜肌腱放入该动物的左侧膝关节腔内,作为对照。术后分别在第1、2、4、6、8、10、12周取出被放置的游离肌腱段分别进行大体、光镜及透射电镜观察。

1.2 无滑膜肌腱与滑膜细胞体外联合培养

无滑膜肌腱段取自胎龄7个月引产胎儿的掌长肌肌腱,放入装有Hank's B.S.S液的无菌试管内密封,置入-40℃冰箱内冻存。同一胎儿手的短腱纽进行植块法细胞培养。将腱纽组织反复剪切成0.5 mm的碎片,置于无菌培养皿底壁上,加入含有10%小牛血清的DMEM F-12培养液(培养基为Sigma公司产品),37℃,5%CO_2孵箱内培养。原代培养的第14天进行传代培养。传代培养的第7天,取冻存的胎儿无滑膜肌腱在室温(27℃)下复温,无菌室内剪切成长约1.5 cm的肌腱段放入含有10%小牛血清,DMEM F-12培养液的无菌培养皿中。再将培养有滑膜细胞的平皿进行胰蛋白酶消化处理,制成滑膜细胞悬液,台盼蓝染色细胞计数为$8\sim12\times10^6$。无滑膜肌腱段放入盛有滑膜细胞悬液的培养皿中。置入CO_2孵箱内培养。原代培养第10天,细胞已长满培养皿底壁。用0.02%EDTA和0.25%胰蛋白酶1∶1混合消化液消化,离心,传代培养。在进行细胞、肌腱联合培养的同时,另将无滑膜肌腱段放入无细胞的培养皿中单独培养,所用的培养基和培养条件与联合培养完全相同,作为对照。

2 结果

2.1 在体培养无滑膜肌腱段的形态变化

培养前无滑膜肌腱呈银白色,表面有明暗相间的波纹,被覆着疏松的有较多小血管的腱旁组织,腱实质内束间结缔组织数量比例较大,含有血管,腱束排列较松散(图1)。放入关节腔内培养后,除4段因切口感染发生粘连外,其余均游离于关节腔中。培养1周,肌腱段变为不规则长条形,表面光滑。培养2周以后,肌腱段逐渐变为不规则球形,体积明显减小。表面光滑,波纹消失(图2)。

对照侧的有滑膜肌腱段,在关节腔内均为游离状态,术后

* 国家自然科学基金资助课题,No.39270825

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



膝关节 囲a术后前期无滑膜肌
ynovial tigon (Segmefroculti
:: pardamnerse sbtsoafdeNSTNSF
膝段 囲a术后前期无滑膜肌
gfrdysturegNSTScnlSoardebnsda
肌膝段切屑 3 培养5周的无滑膜
ltured forRgeekSectiolbNST c

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

态，没有产生粘连。同时，无滑膜肌腱段移置于关节腔内，在失去血供，仅有滑液的环境中“培养”，形态结构也发生显著变化。究其原因，可能是由于游离移置的肌腱段在新环境中发生的适应性变化。从动物肢体切取的无滑膜肌腱段放置于关节腔内，肌腱段失去血液灌注，营养途径改变为滑液浸润，腱内血管逐渐消失，同时失去了原位肌肉收缩施加于肌腱的张力，而受到关节活动如挤压、研磨等作用的影响，使原来的带状肌腱逐渐改变成为不规则球形。腱束排列趋向紧密，束间结缔组织减少，腱束排列相对紧密紊乱。无滑膜肌腱经“在体培养”后形态变化的结果，与正常鞘内有滑膜肌腱的形态结构相似。而对照组鞘内有滑膜肌腱段经“在体培养”后，除断端出现细胞增生改变以外，其形态结构基本上保持不变，新的环境对这类肌腱并无多大影响。因此，根据实验结果可以进一步说明，鞘外无滑膜肌腱与鞘内有滑膜肌腱的形态结构、营养途径等方面所存在着的显著差异，是与其所处环境密切相关的，通过周围环境改变后的适应过程，又是可以转化的。

3.2 无滑膜肌腱在体培养后表层细胞的形态特点及其意义

Eiken 和 Lundborg 等用鞘内有滑膜肌腱“在体培养”的实验中，观察到肌腱断端变圆钝，呈帽状突起。组织学检查，是由细胞性纤维增生的结果。认为：其中的细胞是成纤维细胞，来源于肌腱组织本身[1,2]。

实验时用无滑膜肌腱段经关节腔内培养后，腱表面变得光滑，形成包囊结构，光镜下可见包囊是由许多新生的细胞和纤维构成。透射电镜观察，包囊表面有两种形态的细胞，第一种细胞的形态特征，与部分学者观察到的滑膜组织中的 A 型滑膜细胞形态特征相一致[5~7]，第二种细胞的形态特征则与部分学者观察到的滑膜组织中的 B 型（或 2 型、S 型）细胞的形态相一致[5~7]。说明：这两种表层细胞具备了或部分具备了滑膜细胞的形态特征。由此推论：无滑膜肌腱经滑液囊环境的培养改造过程，除腱实质发生相应的改变外，其表面可被滑膜细胞层复盖，转化为有滑膜肌腱。

3.3 无滑膜肌腱滑膜化改造的可能途径

自 Vaubel(1933)首次进行滑膜细胞体外培养以来，不少学者先后用各种方法，从各个角度对滑膜细胞进行过广泛的研究[8]。但他们培养的细胞均取自关节滑膜组织。1984 年，Ricci 等将鼠肌腱与人工合成的纤维放在一起体外培养，观察到有圆形、纺锤形和多极或不规则形的三种细胞，在生长区的前缘并见到一些鞘细胞明显迁移[9]，爬行于人造纤维的表面。本实验用胎儿手屈肌腱鞘内滑膜组织进行体外培养，经原代和传代培养后，通过胰蛋白酶消化制成滑膜细胞悬液，再与胎儿的无滑膜肌腱联合培养。培养后的肌腱表面变得光滑，被覆了大量的细胞，这些细胞的体积大，突起长，与体外培养的游离滑膜细胞形态特征一致，经免疫组化 ABC 法抗中间丝(Vimentin)抗体检测阳性。说明体外培养的屈肌腱鞘的滑膜细胞能够覆盖无滑膜肌腱，使无滑膜肌腱段获得有滑膜肌腱的形态特征。无滑膜肌腱与滑膜细胞体外联合培养使之滑膜化的可能途径。

3.4 无滑膜肌腱滑膜化的意义

长期以来，人们普遍认为鞘内肌腱移植后，不可避免的发生粘连。同时，在实验研究和临床工作中，寻找减轻或阻止粘连的努力也一直未停息过。1963 年，Potenza 通过实验研究认识到保持腱滑液鞘的完整，有利于减轻肌腱愈合过程中的粘连[10]。后来，Eiken 等一系列动物实验及临床观察，都支持了 Potenza 的意见[1~3]。并认为滑膜是防止粘连的重要屏障。

实验中将胎儿的无滑膜肌腱与滑膜细胞在体外联合培养，显示滑膜细胞能够在无滑膜肌腱表面生长，形成光滑的滑膜层，遮盖无滑膜肌腱表面的腱旁组织，证明了无滑膜肌腱可以滑膜化。采用滑膜化的方法，改造无滑膜肌腱，用作修补鞘内肌腱缺损的供体，使依赖于血供的无滑膜肌腱，移植后的愈合过程，适应鞘内屈肌腱的愈合机制。由创面敞开于筋膜间隙，以肉芽长入及结缔组织增生为主，转变为在密闭的鞘滑液囊内，以滑液营养和肌腱细胞自身修复为主，这将大大减轻愈合后的粘连，达到改善手指功能恢复的目的。

参考文献

1 Eiken O, Lundborg G, Rank F. The role of the digital synovial sheath in tendon grafting. An experimental and clinical study on autologous tendon grafting in the digit. Scand J Plast Reconstr Surg, 1975; 9: 182

2 Lundborg G. Experimental flexor tendon healing without adhesion formation—A new concept of tendon nutrition and intrinsic healing mechanisms. A preliminary report. Hand, 1976; 8(3): 235

3 Manske PR, Gelberman RH, vande Berg JS et al. Intrinsic flexor—tendon repair. A morphological study in vitro. J Bone Joint Surg (A), 1984; 64(3): 385

4 张正治，钟世镇，孙 博. 屈指肌腱的血液供应及其临床意义. 解剖学报，1990; 21(2): 121～125

5 Barland P, Novikoff AB, Hamerman D. Electron microscopy of the human synovial membrane. J Cell Biol, 1962; 14: 207

6 Williamson N, James K, Ling NR. Synovial cells, A study of the morphology and an examination of protein synthesis of synovial cells. Ann Rheum Dis, 1966; 25: 534

7 Graabaek PM. Characteristics of the two types of synovio-

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

cytes in rat synovial membrane. An ultrastructural study. Lab Inv, 1984; 50(6): 690
8 Fraster JRE, Mclall JF. Culture of synovial cells in vitro notes on isolation and propagation. Ann Rheum Dis, 1965; 24: 351
9 Ricci JL, Gona AG, Alexander H et al. Morphological characteristics of tendon cells cultured on synthetic fibers. J Biomed Mate Res, 1984; 18: 1073
10 Potenza AD. Critical evaluation of flexor－tendon healing and adhesion formation within artificial digital sheath. J Bone Joint Surg (Am), 1963; 45(6): 1217

(收稿: 1994-08-31; 修回: 1994-11-28)

A study of synovialization of non-synovial tendon and its significance

Zhang Zhengzhi, Song Yiping, Liu Zhengjin, Mi Jianhong (Department of Anatomy, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract The non-synovial part of the profoudn digital flexor tendon of rabbits was put into the joint cavity of the knee aseptically and a human fetal tendon was cultured with synovial cells *in vitro*. It was found after culture that the non-synovial tendon of rabbits was covered with a sheet of membrane-like tissue which exhibited the morphological features of the synovial membrane and the implanted tendon was kept free in the joint cavity without adhesion to its surrounding tissues. The surface of the human fetal tendon was covered with a layer of synovial cells. It is concluded that synovialization of the non-synovial tendon can be achieved either in an environment full of synovial fluid *in vivo* or with tissue culture *in vitro*.

Key words tendons; synovial membrane; tissue culture; rabbit

肝左叶下胆囊一例报告

Report of a case of left-side gallbladder

马宽生 王乃俊 杨占宇 (第三军医大学西南医院肝胆外科中心) 630038

患者，女性，42岁，因间歇性剑突下疼痛7年，加重2 d入院。患者自1987年开始每因进高蛋白高脂肪饮食后即诱发剑突下胀痛或绞痛，不放散，伴恶心但无呕吐，每次发作历时30 min至2 h，在当地医院诊疗后服用一般消炎药，止痛剂(不详)及阿托品，颠茄片等缓解。无发烧及巩膜皮肤黄染。此次入院前2天疼痛又发作，但持续时间长，在当地医院治疗后病情无缓解而来本院就医，急诊行B超检查以"慢性结石性胆囊炎急性发作"收入我科。B超报告为：胆囊颈部见直径2.0 cm的增强光团伴声影，胆囊长径4.5 cm。住院后经抗炎，解痉，禁食处理后病情无明显好转，第4天剑突下疼痛严重，体检发现剑突下偏左触痛明显，血常规示：WBC 11.1×10^9/L，W－LCR＝0.919。拟诊为"慢性结石性胆囊炎急性发作，胆囊颈部结石嵌顿"，但也不排除有溃疡病穿孔的可能。行急诊剖腹探查术，见右肝前叶下无胆囊，十二脂肠与肝门有粘连，初以为是十二脂肠球部溃疡穿孔，经仔细探查，发现胆囊位于镰状韧带左侧，附着于左外叶下段，充血，水肿明显，胆囊颈部有一直径为2cm的结石嵌顿。行胆囊减压后切除胆囊。术后恢复顺利，痊愈出院。

讨论

肝左叶下胆囊属胆囊位置异常的一种，非常罕见，此乃由于肝憩室的胚胎芽向左而不向右移所致；也可能由于左肝管的第二胆囊单独发育，而右侧的正常胆囊结构退化或发育不良所致。肝左叶胆囊如发生炎症或结石，在临床诊断或手术探查中均可使人迷惑，易误诊为其它急腹症，手术操作也不太习惯[1,2]。本例患者术前感剑突下疼痛，体检剑突左侧压痛明显，在诊断时考虑有溃疡病穿孔的可能，术中也怀疑为十二指肠球部溃疡穿孔，经仔细检查为胆囊异位畸形，符合本病的特点。术前B超有时可以诊断，该病例B超检查时行侧位扫描，未注意胆囊位置的异常，此应以为戒。

关键词 胆囊疾病
中图法分类号 R575.6

参考文献

1 段学龄. 胆道系统的先天性异常. 见：叶维法主编. 临床肝胆病学. 天津：天津科学技术出版社，1985：1005
2 Ikoma A, Sabo M. Left－side gallbladder with accessory liver accompanied by intrahepatic cholangiocarcinoma. Nippon Geka Gakkai Zasshi, 1992; 93: 434～436

(收稿：1994-01-11；修回：1994-11-22)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net