

基础研究

阔筋膜修复腰椎间盘突出纤维环的组织学观察

黄卫国¹, 易军飞¹, 白瑞飞¹, 刘友军¹, 刘尚礼², 宋卫东²

(1 广西柳州市柳铁中心医院骨科 545007; 2 中山大学第二附属医院骨科 510120 广州市)

【摘要】目的:探讨阔筋膜修复腰椎间盘突出纤维环的可行性。**方法:**16 只健康成年新西兰大耳白兔,经腹膜外入路切开 L4/5 椎间盘纤维环,摘除髓核,模拟临床人工髓核置换术方法置入人工髓核,用自体阔筋膜修复纤维环切口。分别于术后 4、8、12 及 16 周处死动物,取手术节段椎间盘进行大体和组织形态学观察。**结果:**术后 4 周,阔筋膜表面有薄层肉芽组织增生,少量炎性细胞浸润;阔筋膜纤维中未见炎性细胞浸润。术后 8 周,阔筋膜表面有较多纤维肉芽组织形成和炎性细胞浸润;阔筋膜纤维中未见炎性细胞浸润。术后 12 周时,大量连贯的纤维肉芽组织封闭阔筋膜表面,其中可见大量炎性细胞;阔筋膜纤维中未见炎性细胞浸润。术后 16 周时,纤维肉芽组织、阔筋膜与纤维环之间紧密结合;阔筋膜纤维中未见炎性细胞浸润;阔筋膜维持原有的正常结构;胶原纤维纵向排列,其纤维细胞呈梭形,与纤维走行方向一致。**结论:**用兔自体阔筋膜修复腰椎间盘突出纤维环切口移植的阔筋膜不被受区组织吸收降解,能保持其原有的组织结构,从而保持它固有的坚韧力学性能。

【关键词】 腰椎间盘突出;阔筋膜;修复;纤维环;组织学;兔

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2010.11.06

中图分类号:R681.5, Q954.6 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2010)-11-0902-05

Histological study of fascia lata on repairing intervertebral disc annulus/HUANG Weiguo, YI Junfei, BAI Ruifei, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2010, 20(11):902~906

【Abstract】 Objective: To investigate the feasibility of fascia lata on repairing intervertebral disc annulus. **Method:** 16 healthy New Zealand rabbits were divided into 4 groups randomly. Intervertebral disc (L4/5) was exposed and removed by retroperitoneal approach in every rabbit. Then the artificial nucleus was implanted into disc cavity, and the incision of annulus was sewed by fascia lata. The animals were sacrificed at 4 weeks, 8 weeks, 12 weeks and 16 weeks after operation respectively, and the gross anatomical and histomorphology changes were studied. **Result:** All incisions of annulus were healed after operations. No protrusion of artificial nucleus was observed. 4 weeks after operation, there was a thin layer of fibro granulation tissue developed on the surface of the fascia lata, and a few inflammatory cells were noted infiltrating into fascia lata. At 8 weeks, fibre granulation tissues developed much more than before, and more inflammatory cells could be observed, while no inflammatory cells were noted infiltrating into fascia lata. At 12 weeks, much more fibre granulation tissues blocked the surface of fascia lata. Inflammatory cells were evidenced and no inflammatory cells were noted infiltrating into fascia lata. At 16 weeks, fibre granulation tissues, fascia lata and annulus grew intersectionally, and no inflammatory cells were noted infiltrating into fascia lata, and fascia lata maintained the original structure with the fibre tissue orientated longitudinally and parallelly. **Conclusion:** Repairment of lumbar intervertebral disc annulus incision with fascia lata is not apt to degradation, which can maintain its inherent structure as well as biomechanical properties.

【Key words】 Lumbar intervertebrae disc; Fascia lata; Annulus; Repairing; Histology; Rabbit

【Author's address】 Department of Orthopaedics, Liuzhou Municipal Liutie Central Hospital, Guangxi, 545007, China

腰椎间盘突出退行性疾病如腰椎间盘突出症、椎间盘源性腰痛等是骨科常见病、多发病。常规的手

第一作者简介:男(1966-),副主任医师,医学博士,研究方向:骨关节病

电话:(0772)3922727 E-mail:hwglylg@163.com

术方式是行髓核摘除术或脊椎融合术。但髓核摘除术(包括微创手术)可能导致脊柱不稳等,术后复发率可高达 15%^[1-4];而脊椎融合术则可导致融合节段活动度丧失,加速邻近节段的退行性改变。1996 年人工髓核置换术在欧洲开始应用于临床

治疗某些退行性腰椎间盘突出疾病,不仅能维持椎间高度和脊柱稳定性,还能保留该节段的活动功能,但因假体移位突出所致的再手术率较高,其临床应用仍存在争论。为了防止人工髓核置换术后假体的移位突出,许多椎间盘纤维环修复技术正在研究之中^[5]。阔筋膜作为自身组织的修复材料,已广泛应用于腹壁、硬脑膜等组织缺损的修补,但应用于椎间盘纤维环缺损的修复则尚未见报道。本研究用大白兔模拟临床人工髓核置换术后应用自体阔筋膜修复纤维环切口,观察移植的阔筋膜在脊柱活动对纤维环及阔筋膜产生拉伸力的作用下阔筋膜组织形态学的变化转归,以评价阔筋膜在纤维环切口修复中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及模型制作

健康成年新西兰大白兔 16 只,体重 2.5~3.5kg/只,雌雄不限。麻醉后常规消毒铺巾,在后肢切取阔筋膜备用。经腹膜外显露 L4/5 椎间盘,模拟临床人工髓核置换手术方法:在纤维环前方做一横向小切口,长约 0.5cm,切开纤维环全层,摘除髓核组织,置入自制人工髓核假体(材料为聚甲基丙烯酸甲酯,规格为 8×5×2mm),用自体阔筋膜修补缝合纤维环切口,并将阔筋膜补片用螺钉固定在邻近的上下椎体上,防止早期切口缝线崩裂导致人工髓核移位脱出。术后分笼饲养,允许动物自由活动。

1.2 组织学检查

术后 4、8、12 及 16 周各处死动物 4 只动物;切取腰段脊柱标本,大体观察人工髓核假体位置。将脊柱标本用 4%多聚甲醛溶液充分固定,脱钙,纵向平分为左右二等份,肉眼观察各椎间盘纤维环切口形态的变化;并送病理科行石蜡包埋、切片,HE 染色,在光学显微镜(Olympus BH-50,日本)下观察纤维环切口处的组织学变化。同时取 L3/4 椎间盘作为对照。

2 结果

无一例发生人工髓核假体移位、脱出。术后 4 周,阔筋膜表面有一薄层纤维肉芽组织形成,但尚未连贯,与纤维环结合疏松(图 1);术后 8 周,纤维环周围的纤维肉芽组织较前增多,但与阔筋膜结合仍不紧密,阔筋膜组织清晰(图 2);12 周时,纤维

肉芽组织在纤维环周围形成厚层包裹纤维环并且紧密结合,阔筋膜与纤维环之间仍似有小缝隙(图 3);16 周时,阔筋膜与纤维环之间已完全紧密结合,纤维肉芽组织、阔筋膜与纤维环之间层次清楚,缝隙消失(图 4)。

HE 染色切片观察,正常椎间盘纤维环外层组织嗜伊红,呈红色,内层组织嗜碱性,呈紫色,可见纤维环组织分层排列,纤维走行方向交错,联系紧密(图 5);髓核组织由大量细胞外基质和散在的细胞组成(图 6)。术后 4 周,L4/5 椎间盘切口处阔筋膜表面有少量纤维肉芽组织增生,少量炎性细胞浸润,纤维环胶原纤维肿胀,纤维肉芽组织不连贯,与纤维环结合不紧密(图 7);术后 8 周,阔筋膜表面可见较多纤维肉芽组织形成,有大量炎性细胞浸润,纤维肉芽组织还不连贯;阔筋膜表面有少量炎性细胞浸润,阔筋膜纤维中未见炎性细胞浸润(图 8)。术后 12 周时,大量连贯的纤维肉芽组织封闭阔筋膜纤维表面,可见大量炎性细胞;阔筋膜纤维表面与纤维肉芽组织结合处拟有少量炎性细胞浸润,但纤维中仍未见炎性细胞浸润;纤维肉芽组织、阔筋膜纤维与纤维环纤维之间结合较为紧密,仍似有小缝隙存在(图 9)。16 周时,纤维肉芽组织中可见大量炎性细胞;纤维肉芽组织、阔筋膜纤维与纤维环纤维之间紧密结合,它们之间缝隙完全消失(图 10);在放大 400 倍镜下观察,阔筋膜纤维中未见炎性细胞浸润;阔筋膜维持原有的正常结构;胶原纤维纵向排列,其纤维细胞呈梭形,与纤维走行方向一致(图 11)。

3 讨论

3.1 椎间盘纤维环修复技术的现状

人工髓核假体移位突出的原因很多,椎间盘纤维环结构的薄弱是其中主要原因之一。研究表明,纤维环自身愈合修复能力差,而且形成的纤维层较薄弱,生物力学性能低^[6]。目前,修复纤维环的方法主要有以下几种:直接缝合,纤维环再生及修补加固,髓核成形术(nucleoplasty)等。Ahlgren 等^[7]为了评价直接缝合是否能提高纤维环的修复能力,用羊进行实验,在不同节段椎间盘的纤维环上作不同的切口:水平切开、十字切开及窗式切开,然后用 3-0 的可吸收缝线直接缝合,然后进行椎间盘压力-容积试验(pressure-volume testing)。结果表明,随着时间的推移,三种切口的

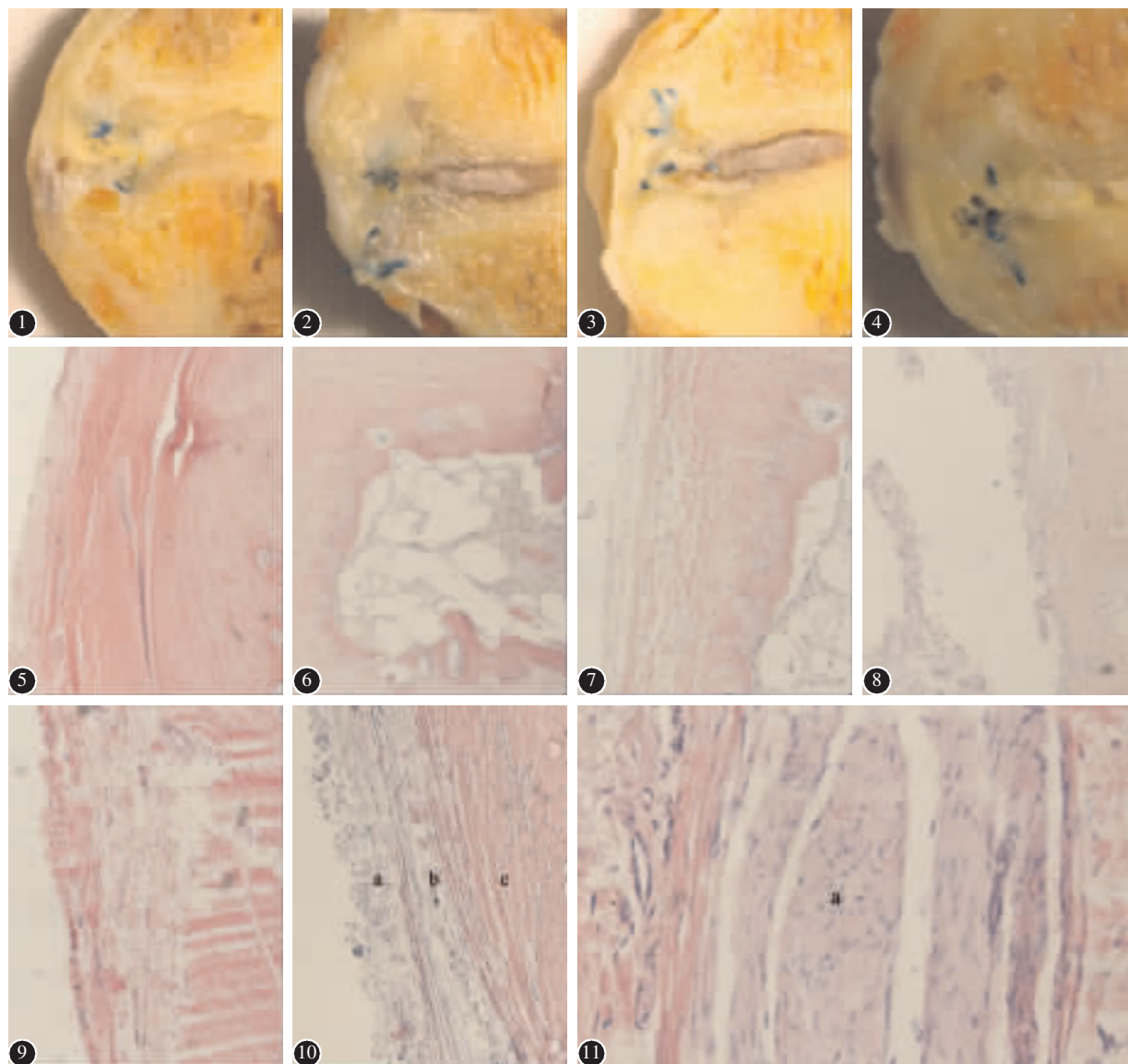


图 1 术后 4 周,手术椎间盘大体观察阔筋膜表面纤维肉芽组织很少 图 2 术后 8 周,大体观察阔筋膜表面纤维肉芽组织较少 图 3 术后 12 周,大体观察阔筋膜表面纤维肉芽组织较多 图 4 术后 16 周,大体观察阔筋膜表面纤维组织呈层状 图 5 正常椎间盘纤维环分层排列,纤维方向交错(HE $\times 40$,下同) 图 6 正常髓核由细胞外基质和散在的细胞组成 图 7 术后 4 周,阔筋膜表面纤维肉芽组织很少 图 8 术后 8 周,阔筋膜表面纤维肉芽组织较少 图 9 术后 12 周,阔筋膜表面纤维组织较多 图 10 术后 16 周,纤维肉芽组织(a)、阔筋膜(b)与纤维环(c)之间紧密结合 图 11 术后 16 周,阔筋膜纤维(a)纵向排列,细胞呈梭形,与纤维走行方向一致(HE $\times 400$)

愈合均有增强的趋势,然而,对不同切开方式而言,缝合与否对椎间盘纤维环愈合的强度没有明显的差异。

纤维环修复要求修复后立即获得力学稳定性和日后形成自身组织的能力,除了要考虑修复材料诸如免疫原性、生物相容性及生物降解等因素之外^[8],Bron 等^[9]提出材料应具备以下特质:(1)能修复纤维环裂口以容纳人工髓核假体;(2)能够固定在裂口周围纤维环组织或椎体终板上;(3)使

纤维环细胞能够粘附存活并合成分泌细胞外基质;(4)具有各向异性的力学特征,保持或重建脊柱运动节段的力学性能;(5)对神经根没有刺激和粘连。目前应用于这方面研究的材料很多,如海藻酸钠/壳聚糖、多孔丝素蛋白、聚乙醇酸纤维网、静电聚己内酯、聚乳酸/生物玻璃等。但这些材料只是作为桥梁支架作用,结合纤维环细胞的移植,目的是使纤维环细胞能够粘附和生长,所有的研究报告均未提及纤维环修复缝合固定的方法,生物

力学特征也很少提及,只有一个研究报告修复材料具有纤维环的多向异性力学特征。大多数研究报告纤维环细胞分泌胶原Ⅱ和蛋白多糖,而不是胶原Ⅰ,后者是纤维环的主要基质成分,过多的胶原Ⅱ不利于纤维环的修复^[10-14]。此外,要获取健康成活的人类纤维环细胞非常困难,其来源只能是椎间盘切除术中退变衰老的细胞,而且很难区分是内层还是外层组织细胞^[15]。因此,研究纤维环再生的细胞往往取自其他动物,并且首先在与内部环境截然不同的体外进行培养,而体外培养的细胞其表型因此丧失^[16]。间质干细胞没有衰老、来源及培养等诸多难题,但因为缺乏确凿的表型来区分是纤维环细胞还是干细胞。所以,目前尚无研究表明干细胞能够分化成为纤维环细胞^[17]。总之,目前尚未有研究表明纤维环再生及修复材料具有获得即刻生物力学的性能,修复材料结合细胞再生方法的诸多问题尚待进一步研究。

髓核成形术操作简单,可以达到以较低的温度(40℃~70℃)溶解髓核组织,有效降低椎间盘内压的目的,从而改善纤维环的张力,促进纤维环修复^[18,19]。经皮穿刺髓核化学溶解术、经皮穿刺椎间盘切吸术、经皮穿刺激光髓核气化术等方法,也是通过降低椎间盘内压,改善纤维环张力来达到修复纤维环的目的。但是,这些方法均没有对纤维环进行直接的修复。

3.2 自体阔筋膜的性能特点

阔筋膜作为自身组织的修复材料,可切取范围广,对供区功能无明显影响;生物相容性好,不需特殊处理,无排异反应;已广泛应用于腹壁、硬脑膜、关节囊、韧带、腱性组织等组织缺损的修复;光镜下可见阔筋膜由大量交织成网状的成纤维细胞组成;扫描电镜下阔筋膜纤维中胶原纤维占大多数,其粗细不等的纤维束之间有呈网状的纤维连接,束内纤维粗细不均,并有联络纤维使其互相联系^[20]。这种独特的网状结构决定了它的坚固性。时文杰等^[21]对狗硬脑膜与阔筋膜承受拉力的能力进行了比较,阔筋膜在横向及纵向上的拉力强度无显著性差别;硬脑膜与阔筋膜之间的拉力强度也无显著性差别;但二者之间每单位宽度所承受的拉力有显著性差别,阔筋膜承受的拉力为 85.5N/cm,硬脑膜承受的拉力为 30.7N/cm,阔筋膜比硬脑膜更坚韧。于沈敏等^[22]用自体阔筋膜重建髋关节后关节囊防止髋关节置换术后脱位,生物

力学测试表明,阔筋膜与髋关节后关节囊两者抗拉强度和弹性基本相似,符合生物力学要求。但自体阔筋膜应用于椎间盘纤维环的修复则尚未见报道。

3.3 阔筋膜修复腰椎间盘纤维环切口的可行性

应用阔筋膜移植修复腰椎间盘纤维环,其组织形态学转归有几种可能:被受区组织吸收、纤维化、化生为纤维环组织或移植成活。阔筋膜移植修复膝关节交叉韧带实验研究提示移植的阔筋膜其营养可能来源于关节液。本实验结果表明移植的阔筋膜其原有的组织结构不发生变化,在受区组织成活;提示其营养来源可能是纤维环周围的组织液。

本研究模拟临床人工髓核置换术后应用自体阔筋膜修复纤维环切口,将阔筋膜补片用螺钉固定在邻近的上下椎体,目的是防止早期切口缝线崩裂导致人工髓核假体移位脱出。结果显示术后各个时间点无一例发生人工髓核假体移位脱出,说明阔筋膜修复纤维环切口后即刻获得生物力学的性能。阔筋膜生物相容性好,不需特殊处理,无排异反应,不被受区组织所吸收降解;移植的阔筋膜纤维表面与纤维肉芽组织结合处有少量炎性细胞浸润,但其纤维内部并未见炎性细胞浸润,无炎症反应发生,因而不发生组织结构的重建或塑形。阔筋膜修补缝合纤维环后 12 周时即与外层的纤维组织及内层的纤维环紧密结合,在放大 400 倍镜下观察,它们之间缝隙完全消失,而阔筋膜本身结构不发生改变;胶原纤维纵向排列,其纤维细胞呈梭形,与胶原纤维走行方向一致,从而保持它固有坚韧的力学性能。

总之,阔筋膜修复纤维环切口后能即刻具备生物力学性能以及保持其原有的组织结构,但是否能达到纤维环组织本身的力学性能要求,从而有效地加固椎间盘纤维环切口和防止人工髓核假体的移位脱出,尚待进行进一步的生物力学测试。

4 参考文献

1. Atlas SJ, Keller RB, Wu YA, et al. Long-term outcomes of surgical and nonsurgical management of sciatica secondary to a lumbar disc herniation: 10 year results from the maine lumbar spine study [J]. Spine, 2005, 30(8): 927-935.
2. Dai LY, Zhou Q, Yao WF, et al. Recurrent lumbar disc herniation after discectomy: outcome of repeat discectomy [J]. Surg Neurol, 2005, 64(3): 226-231.

3. Hakkinen A, Kiviranta I, Neva MH, et al. Reoperations after first lumbar disc herniation surgery: a special interest on residives during a 5-year follow-up [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2007, 8(3): 2-7.
4. Kim JM, Lee SH, Ahn Y, et al. Recurrence after successful percutaneous endoscopic lumbar discectomy [J]. Minim Invasive Neurosurg, 2007, 50(2): 82-85.
5. Klana PM, Ray CD. Artificial nucleus replacement: clinical experience [J]. Spine, 2002, 27(12): 1374-1377.
6. Hampton D, Laros G, McCarron R, et al. Healing potential of the annulus fibrosus [J]. Spine, 1989, 14(4): 398-401.
7. Ahlgren BD, Lui W, Herkowitz HN, et al. Effect of annular repair on the healing strength of the intervertebral disc: a sheep model [J]. Spine, 2000, 25(17): 2165-2170.
8. Leung VY, Chan D, Cheung KM. Regeneration of intervertebral disc by mesenchymal stem cells: potentials, limitations, and future direction [J]. Eur Spine J, 2006, 15(Suppl 3): S406-413.
9. Bron JL, Helder MN, Meisel HJ, et al. Repair, regenerative and supportive therapies of the annulus fibrosus: achievements and challenges [J]. Eur Spine J, 2009, 18(3): 301-313.
10. Chang G, Kim HJ, Kaplan D, et al. Porous silks scaffolds can be used for tissue engineering annulus fibrosus [J]. Eur Spine J, 2007, 16(11): 1848-1857.
11. Mizuno H, Roy AK, Vacanti CA, et al. Tissue-engineered composites of annulus fibrosus and nucleus pulposus for intervertebral disc replacement [J]. Spine, 2004, 29(12): 1290-1297.
12. Nerurkar NL, Elliott DM, Mauck RL. Mechanics of oriented electrospun nano fibrous scaffolds for annulus fibrosus tissue engineering [J]. J Orthop Res, 2007, 25(8): 1018-1028.
13. Shao X, Hunter CJ. Developing an alginate/chitosan hybrid fiber scaffold for annulus fibrosus cells [J]. J Biomed Mater Res A, 2007, 82(3): 701-710.
14. Helen W, Gough JE. Cell viability, proliferation and extracellular matrix production of human annulus fibrosus cells cultured within PDLA/Bioglass (R) composite foam scaffolds invitro [J]. Acta Biomater, 2007, 15(3): 715-721.
15. Gruber HE, Ingram JA, Norton HJ, et al. Senescence in cells of the aging and degenerating intervertebral disc: immunolocalization of senescence-associated beta-galactosidase in human and sand rat discs [J]. Spine, 2007, 32(3): 321-327.
16. Chou AI, Bansal A, Miller GJ, et al. The effect of serial monolayer passaging on the collagen expression profile of outer and inner annulus fibrosus cells [J]. Spine, 2006, 31(17): 1875-1881.
17. Evans C. Potential biologic therapies for the intervertebral disc [J]. J Bone Joint Surg Am, 2006, 88(Suppl 2): 95-98.
18. Chen YC, Lee SH, Saenz Y, et al. Histologic findings of disc, end plate and neural elements after coblation of nucleus pulposus: an experimental nucleoplasty study [J]. Spine J, 2003, 3(6): 466-470.
19. Chen YC, Lee SH, Chen D. Intradiscal pressure study of percutaneous disc decompression with nucleoplasty in human cadavers [J]. Spine, 2003, 28(7): 661-665.
20. 柏树令, 罗实, 田应舜, 等. 阔筋膜的微血管构筑及其纤维配布 [J]. 中国医科大学学报, 1994, 23(6): 542-544.
21. 时文杰, 王学敏, 时利. 狗硬脑膜与阔筋膜承受拉力比较 [J]. 中国中西医结合耳鼻喉科杂志, 2004, 12(5): 233-234.
22. 于沈敏, 蔡兵, 桂景. 自体阔筋膜重建髋关节后关节囊防止髋关节置换术后脱位 [J]. 骨与关节损伤杂志, 2003, 17(1): 66-67.

(收稿日期: 2010-04-28 修回日期: 2010-07-19)

(英文编审 蒋欣/刘思麒)

(本文编辑 卢庆霞)

消息

第七届长征脊柱外科学术论坛征文通知

为加强脊柱外科学术交流,促进脊柱外科学科的发展与完善,总结我国脊柱外科领域近年来的临床与基础研究成果,推动脊柱外科不断创新与发展,由上海长征医院长征骨科医院、《脊柱外科杂志》、南方医科大学、《中华外科杂志》主办的“第七届长征脊柱外科学术论坛”定于 2011 年 3 月 18-20 日在上海召开。本次会议将集中展现近几年来我国在脊柱外科领域所取得的研究成果,体现脊柱外科基础研究及脊柱退变、创伤、中瘤、畸形等方面的最新技术和进展。会议将邀请国内脊柱外科领域著名专家进行专题报告。

征文内容: (1) 脊柱创伤近两年国内外研究进展与问题探讨。(2) 脊柱退变性疾病治疗现状分析。(3) 脊柱肿瘤近两年国内外研究现状、疗效分析及存在问题。(4) 脊柱侧凸近两年国内外研究进展、诊治现状、问题分析。(5) 微创脊柱外科的概念、范畴与应用。征文要求: 凡未在正式刊物上公开发表的研究成果; 请提交 5000 字以内的论文及 800 字以内摘要各一份, 投稿者请务必注明作者单位、详细地址、邮编、联系电话及电子邮箱地址。格式要求: 5 号字体, A4 版面, 文稿顺序为题目、作者姓名、单位、摘要(应包括题目、目的、方法、结果及结论)、正文, 请用电脑打印投递或以 E-mail 投稿。

截稿日期: 2011 年 1 月 15 日。联系人: 许丽英 021-81885652、13651937939; 张丽 021-81885651、021-63720099。E-mail: CZ-GK@163.com。传真: 021-63720099。