

# 前交叉韧带重建术后腱骨愈合的生物学干预

陈刚\*, 刘蒙飞\*, 姜侃#

新疆医科大学第六附属医院关节外科, 新疆 乌鲁木齐

收稿日期: 2023年4月17日; 录用日期: 2023年5月9日; 发布日期: 2023年5月19日

## 摘要

前交叉韧带断裂的主要原因是运动损伤, 约占70%以上。前交叉韧带损伤能够继发关节软骨退变及半月板损伤, 甚至导致关节功能丧失。在关节镜下行自体腘绳肌肌腱重建前交叉韧带是目前公认最有效的治疗方式, 但失败率约为0.7%~10%, 其手术失败的重要原因是移植肌腱与骨隧道愈合不良导致的。前交叉韧带重建术后腱骨界面的愈合是影响手术效果和患者转归的重要因素。因此, 目前迫切需要寻找有效促进腱骨愈合作用靶点和干预方法作为补充治疗措施。本文从生物学干预角度对腱骨愈合的相关研究进行综述, 总结目前医学前沿的基因工程技术加速腱骨愈合的关键问题, 并展望未来的应用前景, 降低重建后韧带的再损伤率, 快速帮助患者恢复运动功能, 改善生活质量, 提高生活水平。

## 关键词

ACL, 前交叉韧带重建, 腱骨愈合, 干细胞治疗, 基因治疗

# Biological Intervention for Tendon-Bone Healing after Anterior Cruciate Ligament Reconstruction

Gang Chen\*, Mengfei Liu\*, Kan Jiang#

Department of Arthrosis, The Sixth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang

Received: Apr. 17<sup>th</sup>, 2023; accepted: May 9<sup>th</sup>, 2023; published: May 19<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

The primary cause of anterior cruciate ligament rupture is sports-related injuries, accounting for

\*共一作者。

#通讯作者。

文章引用: 陈刚, 刘蒙飞, 姜侃. 前交叉韧带重建术后腱骨愈合的生物学干预[J]. 临床医学进展, 2023, 13(5): 7949-7953. DOI: 10.12677/acm.2023.1351113

over 70% of cases. Anterior cruciate ligament injury can lead to secondary joint cartilage degeneration and meniscus injury, and even result in loss of joint function. Autogenous hamstring tendon reconstruction of the anterior cruciate ligament is currently recognized as the most effective treatment method, but failure rates range from 0.7% to 10%. The main reason for surgical failure is poor healing between the transplanted tendon and bone tunnel. The healing of the tendon-bone interface after anterior cruciate ligament reconstruction surgery is an important factor affecting surgical outcomes and patient recovery. Therefore, there is an urgent need to identify effective targets and intervention methods to promote tendon-bone healing as a supplementary treatment measure. This article provides a comprehensive review of relevant research on tendon-bone healing from a biological intervention perspective, summarizes key issues in gene engineering technology at the forefront of medicine to accelerate tendon-bone healing, and looks ahead to future applications that can reduce the rate of re-injury after reconstruction, restore patients' physical function, improve the quality of life and the standard of living.

## Keywords

ACL Reconstruction, Anterior Cruciate Ligament Reconstruction, Tendon-Bone Healing, Stem Cell Therapy, Gene therapy

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

前交叉韧带(Anterior Cruciate Ligament, ACL)是膝关节重要的稳定结构之一, ACL 断裂是一种常见的运动系统损伤, 可导致一系列继发症状, 其中包括膝关节松弛、运动功能障碍、软骨损伤, 甚至发生早期创伤性关节炎, 影响患者日常生活和运动功能[1]。膝关节前交叉韧带重建(Anterior Cruciate Ligament Reconstruction, ACLR)是前交叉韧带断裂的首选治疗方式, 重建 ACL 移植物主要有自体肌腱和异体肌腱, 目前应用自体肌腱重建 ACL 是治疗前交叉韧带断裂的首选肌腱, 其临床安全性和生物相容性均优于异体或人工肌腱[2], 因此应用自体腘绳肌腱重建 ACL 成为主流的肌腱选择[3]。ACL 重建手术虽然在解剖学上恢复了前交叉韧带, 但是患者术后再次发生 ACL 损伤的几率是正常人的六倍[4]。其原因是腱骨愈合过程中形成的瘢痕组织的生物力学特性非常有限, 使愈合后的肌腱容易再次损伤, 腱骨愈合不良是导致术后膝关节前交叉韧带再次断裂或撕裂的重要原因, 且在一定程度上增加了 ACL 再撕裂的风险[5]。因此, 重建后的腱骨愈合情况往往是评估 ACL 重建术后能否达到良好手术效果的重要指标[6]。目前, 学者们寻求生物疗法来增强腱骨愈合的界面。在过去十年时间内, 大量学者对于 ACL 腱骨愈合影响因素的研究, 主要分为六个方面: 生长因子治疗、干细胞治疗、基因工程技术、自体组织、生物材料和药物干预, 并取得了一定的成效。本文主要就干细胞及基因疗法这两方面作一综述。

## 2. 骨髓间充质干细胞

骨髓间充质干细胞(Bone Marrow Derived Stem Cells, BMSCs)是一种多能干细胞, 在特定诱导条件下具有定向分化为骨、软骨、肌腱、肌肉等组织的潜能, 经多次传代培养后仍具有良好的生物学特性, 因此自体 BMSCs 不仅可以用于重建组织器官的结构和功能, 还可避免异体移植带来的免疫排斥反应。鉴于其增殖能力, 且同时拥有强大的生长力和拥有分化生成其他细胞的多谱系潜能[7] [8], 被广泛应用于诸多

基础研究中[9]。在一项研究中[10], 证实骨髓间充质干细胞有效促进了胶原纤维的生成, 在腱骨愈合界面形成了大量纤维软骨, 进一步证实了 BMSCs 能促进腱骨界面的愈合。Karaoglu S [11]发现被注入骨髓血的腱骨界面, 肌腱与骨隧道的愈合增强; 对其有促进作用, 术后六周, 新骨长入明显增强, 术后十二周可见明显的纤维软骨带, 重建韧带的生物力学特性良好。大量研究均证实 BMSCs 对腱骨愈合界面有着促进增强作用。

### 3. 脐带间充质干细胞

人脐带血来源的间充质干细胞是同种异体间充质干细胞的良好来源, 因为它们具有可用性、高增殖能力和低免疫原性的优势特点[12]。Moon SW 等[13]将 HUCBMSC 用于患者 ACL 重建手术中, 在 2 年的随访中, 证实了 HUCBMSCs 可安全使用, 且不会发生不良反应。在一项研究中, Jang KM 等[14]实验发现重建后标本中无任何组织或细胞存在免疫排斥反应。四周时, 对照组标本可见由不规则的血管组织和成纤维细胞形成了明显宽阔的纤维血管界面区, 几乎见不到胶原纤维组织。八周时腱骨界面区清晰可见, 部分可见类似于 Sharpey 样纤维的垂直胶原纤维。十二周时, 在肌腱移植周围观察到更多的锐利状胶原纤维。由此可见, HUCBMSCs 可安全应用于人体并加速血管组织和成纤维细胞的形成来促进腱骨愈合。

### 4. 脂肪源性干细胞

多项研究表明, ADSCs 可促进脂肪组织、肌肉、内皮组织和骨的局部修复和再生[15]。例如, Oh JH 等[16]在兔肩袖撕裂模型中注射 ADSCs 验证腱骨愈合的效果。在肌电图方面, 局部注射 ADSCs 存在更大的复合肌肉动作电位区域和更高的负荷 - 失效结果。由此, 局部注射 ADSCs 可以增强腱骨愈合。Valencia Mora M 等[17]在研究中使用 ADSCs 并没有增强腱骨愈合的生物力学特性, 但 ADSCs 能够抑制炎症反应, 水肿和中性粒细胞相对减少, 组织细胞学分析示急性炎症细胞相对减少, 从而使其更具弹性, 使得瘢痕修复减少。后续观察中, 各组胶原纤维的形成和生物力学指标均无明显变化。虽然 ADSCs 在腱骨愈合的许多研究中都是有效的, 但其确切的机制仍不清楚。首先, 有假设认为 ADSCs 不仅能够自我分化, 还能够通过刺激其他内源性干细胞沿着适当的路径而促进其分化[18]。其次, ADSCs 不仅可以调节细胞增殖、迁移、分化、细胞外基质沉积等生物过程, 还可以通过分泌生长因子和细胞因子来促进腱骨愈合。此外, ADSCs 可以提供抗氧化化学物质或自由基清除剂, 以清除撕裂肌腱和肌肉骨骼组织中的有毒物质, 促进细胞恢复。

### 5. 基因治疗

许多科学家认为, 单独的骨髓间充质干细胞不足以促进腱骨界面的愈合, 并提出骨髓间充质干细胞需要一个信号或分子来提高其有效性, 例如生长因子或转录因子[19]。因此, 基因修饰的骨髓间充质干细胞通常被许多研究人员应用于动物实验中。Wang R 等[20]探讨了 TGF- $\beta$  在 ACL 重建后肌腱骨愈合中的作用。TGF- $\beta$  通过转染骨髓间充质干细胞以此来表达, 进而发挥其作用。在过表达组中有更多的成纤维细胞, 更紧密的腱骨界面, 以及越来越多的细胞和纤维软骨细胞接近软骨细胞和其他胶原纤维。结果表明, 通过调节 TGF $\beta$ /MAPK 信号通路, 上调 ACL 重建后 BMSCs 中 TGF- $\beta$  的表达, 促进腱骨愈合。Wang LL 等人研究了血小板衍生生长因子亚单位 B (PDGF-B)对 BMSCs 修饰肩袖损伤修复后肌腱骨愈合的影响[21]。用重组慢病毒载体编码 PDGF-B shRNA、过表达 Pc-DNA PDGF-B 和无关质粒转染 BMSCs。其研究发现 PDGF-B 可以促进生存能力、成骨分化和成脂分化。PDGF-B 可以提高肌腱组织的极限载荷和刚度。他们证明过表达 PDGF-B 可以促进肩袖损伤修复后腱骨愈合。和直接使用生长因子相比较, 促进腱骨愈合的更好的选择是应用干细胞的基因工程技术。促进腱骨愈合的相关生长因子是由转染的干细胞持续稳定分泌的。并且, 由于干细胞的不断增殖和分化, 生长因子的作用也逐步增强。这样一来, 以干细

胞为基础的基因工程治疗可以产生强大、积极、持续、稳定的生长因子效应。然而, 在基因治疗的正式应用于临床之前, 仍需要面临许多问题[22]。转移基因的表达会随着时间的推移而下降, 可能会导致后期失去所需的表达效果是基因工程治疗的一个主要限制[23]。除此之外, 目前不能得到保证的是基因治疗的安全性问题, 因为可能会出现诱变、恶性进展和其他副作用。

## 6. 结论

综上所述, 腱骨愈合是一个复杂、多阶段且缓慢的过程, 其标志是在骨隧道内移植肌腱的再韧带化。因此, 重建术后腱骨界面的愈合是影响手术效果的重要因素。随着科学和社会的发展, 目前应用生物学技术可促进腱骨愈合。干细胞具有多种分化潜能, 能够无限自我分裂, 在腱骨愈合过程中起到了一定促进增强作用。基因治疗能够增强干细胞和生长因子在局部作用的时间与强度。基因工程技术是将三者有效的整合在一起, 将目的基因和生长因子通过载体与干细胞融合发挥其稳定高效的生物学效应。总之, 大量的研究已经证实了干细胞、生物因子、目的基因对腱骨愈合有着明显的增强促进作用。在未来, 仍需要大量的临床试验去证实生物学干预在腱骨愈合的机制研究, 从而为临床治疗提供帮助与指导, 加快患者的快速康复, 提高其生活质量。

## 参考文献

- [1] 汤义民, 陶钧, 董斌, 等. 关节镜下前交叉韧带重建术的手术时机对患者膝关节功能恢复的影响[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(4): 755-758, 788.
- [2] Sochacki, K.R., McCulloch, P.C., Lintner, D.M. and Harris, J.D. (2019) Hamstring Autograft versus Hybrid Graft in Anterior Cruciate Ligament Reconstruction: A Systematic Review of Comparative Studies. *Arthroscopy*, **35**, 1905-1913. <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2018.11.070>
- [3] Gogh, A.M., Li, X., Youn, G.M., et al. (2019) Arthroscopic Harvesting of Autologous Bone Graft for Use as a Mesenchymal Stem Cell Carrier in Anterior Cruciate Ligament Reconstruction. *Arthroscopy Techniques*, **9**, E45-E50. <https://doi.org/10.1016/j.eats.2019.08.018>
- [4] Paterno, M.V., Rauh, M.J., Schmitt, L.C., Ford, K.R. and Hewett, T.E. (2014) Incidence of Second ACL Injuries 2 Years after Primary ACL Reconstruction and Return to Sport. *The American Journal of Sports Medicine*, **42**, 1567-1573. <https://doi.org/10.1177/0363546514530088>
- [5] Matsumoto, T., Takayama, K., Hayashi, S., et al. (2019) Therapeutic Potential of Vascular Stem Cells for Anterior Cruciate Ligament Reconstruction. *Annals of Translational Medicine*, **7**, S286. <https://doi.org/10.21037/atm.2019.11.79>
- [6] Bi, F.G., Shi, Z.L., Jiang, S., Guo, P. and Yan, S.G. (2014) Intermittently Administered Parathyroid Hormone [1-34] Promotes Tendon-Bone Healing in a Rat Model. *International Journal of Molecular Sciences*, **15**, 17366-17379. <https://doi.org/10.3390/ijms151017366>
- [7] Ciuffreda, M.C., Malpasso, G., Musarò, P., et al. (2016) Protocols for *in vitro* Differentiation of Human Mesenchymal Stem Cells into Osteogenic, Chondrogenic and Adipogenic Lineages. In: Gneccchi, M., Ed., *Mesenchymal Stem Cells*, Humana Press, New York, 149-158. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3584-0\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3584-0_8)
- [8] Čamernik, K. and Zupan, J. (2019) Complete Assessment of Multilineage Differentiation Potential of Human Skeletal Muscle-Derived Mesenchymal Stem/Stromal Cells. In: Turksen, K., Ed., *Stem Cells and Aging*, Humana Press, New York, 131-144. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3584-0\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3584-0_8)
- [9] Lim, J.K., Hui, J., Li, L., et al. (2004) Enhancement of Tendon Graft Osteointegration Using Mesenchymal Stem Cells in a Rabbit Model of Anterior Cruciate Ligament Reconstruction. *Arthroscopy*, **20**, 899-910. [https://doi.org/10.1016/S0749-8063\(04\)00653-X](https://doi.org/10.1016/S0749-8063(04)00653-X)
- [10] Ouyang, H.W., Goh, J.C. and Lee, E.H. (2004) Use of Bone Marrow Stromal Cells for Tendon Graft-to-Bone Healing: Histological and Immunohistochemical Studies in a Rabbit Model. *The American Journal of Sports Medicine*, **32**, 321-327. <https://doi.org/10.1177/0095399703258682>
- [11] Karaoglu, S., Celik, C. and Korkusuz, P. (2009) The Effects of Bone Marrow or Periosteum on Tendon-to-Bone Tunnel Healing in a Rabbit Model. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*, **17**, 170-178. <https://doi.org/10.1007/s00167-008-0646-3>
- [12] Edwards, S.L., Lynch, T.S., Saltzman, M.D., Terry, M.A. and Nuber, G.W. (2011) Biologic and Pharmacologic Aug-

- mentation of Rotator Cuff Repairs. *American Academy of Orthopaedic Surgeon*, **19**, 583-589. <https://doi.org/10.5435/00124635-201110000-00002>
- [13] Moon, S.W., Park, S., Oh, M. and Wang, J.H. (2021) Outcomes of Human Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells in Enhancing Tendon-Graft Healing in Anterior Cruciate Ligament Reconstruction: an Exploratory Study. *Knee Surgery & Related Research*, **33**, Article No. 32. <https://doi.org/10.1186/s43019-021-00104-4>
- [14] Jang, K.M., Lim, H.C., Jung, W.Y., Moon, S.W. and Wang, J.H. (2015) Efficacy and Safety of Human Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells in Anterior Cruciate Ligament Reconstruction of a Rabbit Model: New Strategy to Enhance Tendon Graft Healing. *Arthroscopy*, **31**, 1530-1539. <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2015.02.023>
- [15] Guilak, F., Estes, B.T., Diekman, B.O., Moutos, F.T. and Gimple, J.M. (2010) 2010 Nicolas Andry Award: Multipotent Adult Stem Cells from Adipose Tissue for Musculoskeletal Tissue Engineering. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, **468**, 2530-2540. <https://doi.org/10.1007/s11999-010-1410-9>
- [16] Oh, J.H., Chung, S.W., Kim, S.H., Chung, J.Y. and Kim, J.Y. (2014) 2013 Neer Award: Effect of the Adipose-Derived Stem Cell for the Improvement of Fatty Degeneration and Rotator Cuff Healing in Rabbit Model. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery*, **23**, 445-455. <https://doi.org/10.1016/j.jse.2013.07.054>
- [17] Mora, M.V., Antuña, S.A., Arranz, M.G., Carrascal, M.T. and Barco, R. (2014) Application of Adipose Tissue-Derived Stem Cells in a Rat Rotator Cuff Repair Model. *Injury*, **45**, S22-S27. [https://doi.org/10.1016/S0020-1383\(14\)70006-3](https://doi.org/10.1016/S0020-1383(14)70006-3)
- [18] Gimple, J.M., Katz, A.J. and Bunnell, B.A. (2007) Adipose-Derived Stem Cells for Regenerative Medicine. *Circulation Research*, **100**, 1249-1260. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000265074.83288.09>
- [19] Gulotta, L.V., Kovacevic, D., Montgomery, S., Ehteshami, J.R., Packer, J.D. and Rodeo, S.A. (2010) Stem Cells Genetically Modified with the Developmental Gene MT1-MMP Improve Regeneration of the Supraspinatus Tendon-to-Bone Insertion Site. *The American Journal of Sports Medicine*, **38**, 1429-1437. <https://doi.org/10.1177/0363546510361235>
- [20] Wang, R., Xu, B. and Xu, H.G. (2017) Up-Regulation of TGF- $\beta$  Promotes Tendon-to-Bone Healing after Anterior Cruciate Ligament Reconstruction using Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells through the TGF- $\beta$ /MAPK Signaling Pathway in a New Zealand White Rabbit Model. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **41**, 213-226. <https://doi.org/10.1159/000456046>
- [21] Wang, L.L., Yin, X.F., Chu, X.C., Zhang, Y.B. and Gong, X.N. (2018) Platelet-Derived Growth Factor Subunit B Is Required for Tendon-Bone Healing Using Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells after Rotator Cuff Repair in Rats. *Journal of Cellular Biochemistry*, **119**, 8897-8908. <https://doi.org/10.1002/jcb.27143>
- [22] Bonniaud, P., Martin, G., Margetts, P.J., *et al.* (2004) Connective Tissue Growth Factor Is Crucial to Inducing a Pro-fibrotic Environment in "fibrosis-resistant" BALB/c Mouse Lungs. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, **31**, 510-516. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2004-0158OC>
- [23] 王寒涛, 李梦宇, 喻树迅, 等. GhAIF3 基因在调控植物表型中的应用及调控植物表型的方法[P]. 中国专利, 113846105A. 2021-12-28