

文章编号: 1004-7220(2022)05-0918-07

# 短期跳跃负荷下兔髌腱起止点微细结构变化及 炎症因子表达特征

陈一言<sup>1</sup>, 陆阿明<sup>1</sup>, 齐亚楠<sup>2</sup>, 王琳<sup>3</sup>

(1. 苏州大学体育学院, 苏州 215000; 2. 西安交通大学城市学院 康复治疗学教研室, 西安 710018;

3. 北京体育大学 运动医学与康复学院, 北京 100084)

**摘要:**目的 探讨短期跳跃负荷下兔髌骨髌腱结合部(patella patellar tendon junction, PPTJ)与胫骨髌腱结合部(tibial patellar tendon junction, TPTJ)的适应性反应。**方法** 19只18周龄雌性新西兰大白兔,随机分为对照组( $n=4$ )与跳跃1 d组(J1)、3 d组(J3)、5 d组(J5)(每组 $n=5$ )。使用电刺激定量跳跃装置使兔每日完成150次跳跃(10组 $\times$ 15次,每组3 min,第4组与第8组结束后休息6 min,其余组结束后休息3 min,平均跳跃速度0.083次/s,每日训练总时长约70 min),训练结束24 h后处死动物,取左右后肢膝关节相应组织,行常规HE染色与免疫组化处理,定性描述组织形态学结果,并定量监测细胞密度、软骨带厚度与IL-1 $\beta$ 、IL-6、TGF- $\beta$ 1表达量。**结果** 跳跃组(J1、J3和J5组)PPTJ与TPTJ均发生不同程度的微损伤;J5组PPTJ中IL-1 $\beta$ 和IL-6表达量均显著高于对照组与J1组;J3组PPTJ中IL-6表达量显著高于对照组;J5组TPTJ软骨带厚度显著大于对照、J1、J3组;对照组PPTJ的IL-1 $\beta$ 与IL-6表达显著低于TPTJ;J1组PPTJ的IL-1 $\beta$ 、TGF- $\beta$ 1、IL-6表达量显著低于TPTJ;J3组PPTJ的IL-6表达量显著低于TPTJ。**结论** 短期跳跃负荷致兔PPTJ病理改变早于TPTJ,在短期跳跃负荷下的受损过程中,兔PPTJ炎症因子IL-1 $\beta$ 、IL-6上调,而兔TPTJ则无明显炎症因子变化。研究结果为髌腱病的发病机制提供实验室依据。

**关键词:** 髌骨髌腱结合部; 胫骨髌腱结合部; 短期跳跃负荷; 炎症因子

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2022.05.023

## Microstructure Changes at Bone-Patellar Tendon Junctions in Rabbits under Short-Term Jumping Loads and Expression Characteristics of Inflammatory Factors

CHEN Yiyang<sup>1</sup>, LU Aming<sup>1</sup>, QI Yanan<sup>2</sup>, WANG Lin<sup>3</sup>

(1. School of Sports Science, Soochow University, Suzhou 215000, Jiangsu, China; 2. Teaching and Research Section of Rehabilitation Therapy, Xi'an Jiaotong University City College, Xi'an 710018, China; 3. School of Sports Medicine and Rehabilitation, Beijing Sports University, Beijing 100084, China)

**Abstract: Objective** To investigate the adaptive response of patella patellar tendon junction (PPTJ) and tibial patellar tendon junction (TPTJ) in rabbits under short-term jumping loads. **Methods** Nineteen 18-week old female New Zealand white rabbits were randomly divided into control group ( $n=4$ ) and 1-day jump (J1), 3-day jump (J3), 5-day jump (J5) group ( $n=5$  in each group). Electrical stimulation quantitative jumping device was used to make rabbits complete 150 jumps per day (10 groups  $\times$  15 jumps, 3 minutes' per group, 6 minutes rest after completion of 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> groups, 3 minutes rest after completion of the other groups, the average jumping speed was 0.083 times/s, the total training time per day was about 70 minutes). The rabbits were executed at 24<sup>th</sup> hour

收稿日期: 2021-10-12; 修回日期: 2021-12-10

基金项目: 江苏省产学研合作项目(BY2019022), 江苏省体育局重大体育科研课题(ST192101)

通信作者: 王琳, 教授, 博士生导师, E-mail: waley@bsu.edu.cn

after the training. The corresponding knee tissues from left and right hind limbs were taken for HE staining and immunohistochemistry. The histomorphological results were qualitatively described. The cell density, cartilage thickness, and the expression of IL-1 $\beta$ , IL-6, and TGF- $\beta$ 1 were quantitatively monitored. **Results** The micro-injury of PPTJ and TPTJ occurred at different degrees in jump groups (J1, J3, J5 groups). The IL-1 $\beta$  and IL-6 expressions of PPTJ in J5 group were significantly higher than those in control group and J1 group; the IL-6 expressions of PPTJ in J3 group were significantly higher than those in control group; the thickness of TPTJ cartilage band in J5 group was significantly greater than that in control, J1 and J3 groups; in control group, the IL-1 $\beta$  and IL-6 expressions of PPTJ were significantly lower than those of TPTJ; in J1 group, the IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$ 1, IL-6 expressions of PPTJ were significantly lower than those of TPTJ; in J3 group, the IL-6 expressions of PPTJ were significantly lower than those of TPTJ. **Conclusions** The pathological changes of PPTJ induced by short-term jumping loads were earlier than those of TPTJ. The rabbit PPTJ inflammatory factors IL-1 $\beta$  and IL-6 were up-regulated during injury process under short-term jumping loads, but there was no significant change of inflammatory factors in rabbit TPTJ. The results provide laboratory evidence for the pathogenesis of patellar tendinopathy.

**Key words:** patella patellar tendon junction (PPTJ); tibial patellar tendon junction (TPTJ); short-term jumping load; inflammatory factor

髌腱病是髌腱受到不合理外力负荷而产生的一种退变,触诊痛点常为肌腱在骨上的附着点,高发生率与低治愈率使其成为运动医学领域的一大难题<sup>[1-3]</sup>。造成该现状的主要原因之一是对髌腱病的发病机制缺乏深入的了解。髌腱病发生的外部条件为不合理的负荷,要想知道其机制,就需要最大程度还原髌腱病发生的运动条件<sup>[4]</sup>。肌腱附着点损伤是由于持续收缩的肌肉不断牵拉附着点而引起的一种慢性损伤,故多数实验是在长期运动的干预下进行<sup>[5-6]</sup>。但短期负荷引起的急性损伤很有可能成为髌腱病的起始原因,同样不容忽略<sup>[7]</sup>。由于髌腱病的触诊最痛点往往是腱的起止点,故越来越多髌腱病机制的研究开始关注骨腱结合部。但多数关于髌腱与骨结合部的研究只涉及髌骨髌腱结合部(patella-patellar tendon junction, PPTJ),而缺乏胫骨髌腱结合部(tibia-patellar tendon junction, TPTJ)的相应研究<sup>[8]</sup>。在同样外力负荷下,髌腱中不同部位的表现并不一致,缺少其中任一部分的探究都不利于完善髌腱病的发生发展机制<sup>[9]</sup>。

炎症因子与纤维化因子均与髌腱病的发生机制关系密切,但具体机制还未达成共识。白细胞介素(interleukin, IL)-6与IL-1 $\beta$ 是炎症反应的核心因子,其在不同动物模型中的表达并不一致<sup>[10-11]</sup>。转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- $\beta$ 1是骨腱结合部损伤愈合进程中调控纤维化反应的核心因子,肌腱受到损伤后会通过激活TGF- $\beta$ 1的方式促进肌腱愈合<sup>[12]</sup>。

微细结构指通过显微镜等手段观测到的骨腱结合部中肌腱/软骨/骨细胞排列、胶原纤维形态、细胞密度、软骨带厚度等微观结构。本文总结先前研究的空缺部分(缺少短期负荷与TPTJ),采用电刺激定量跳跃装置使实验兔完成1、3、5 d短期跳跃训练,观察负荷对髌腱起、止点微细结构的影响及其两部位之间的差异,并检测相应部位的炎性因子与纤维化因子表达量。研究结果将丰富和完善髌腱病发病机制,为预防运动性髌腱病提供理论指导。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验对象与分组

18周龄雌性新西兰大白兔(购于北京兴隆实验动物养殖中心),体重2.5~3.0 kg,随机分为对照组( $n=4$ )、跳跃1 d组(J1组,  $n=5$ )、跳跃3 d组(J3,  $n=5$ )、跳跃5 d组(J5组,  $n=5$ )。室温20~22  $^{\circ}\text{C}$ ,空气湿度55%~65%,于中国运动与健康研究院动物房饲养7 d后开始实验。本研究得到北京体育大学伦理委员会批准。本课题组在建立髌腱病动物模型初期采购了雌雄各半的新西兰大白兔,但在实验过程中,雄兔表现出较强的攻击性,多次挠伤实验人员,故最终采用雌兔为实验对象。

### 1.2 动物训练方法

利用电刺激动物跳台(DSTT-1)及固定在其两侧的激光发射接收器(ZL-QTJS002)建立实验兔定量跳跃模型<sup>[6]</sup>,跳台由长方形跳笼与下方的Kistler

测力台(9286AA, Kistler 公司, 瑞士)构成。牵引绳套紧实验兔前肢, 实验人员手提牵引绳, 使实验兔后肢准确放置在电刺激器上, 实验兔的身体与地面夹角约  $60^\circ$ 。电刺激器设定电压 15 kV, 刺激频率 5 次/min, 使实验兔在电流刺激下产生主动跳跃行为, 在起跳到落地过程中牵引绳不施加额外力, 每次跳跃结束后迅速将实验兔重置回起跳位。使用激光发射接收器实时反馈实验兔跳跃高度, 测力台记录的峰值力检测实验兔是否为全力跳跃。1 次合格的跳跃须满足以下条件: 实验兔以正确姿势在电刺激跳台上进行全力跳跃, 跳跃高度大于 15 cm。实验前, 所有实验人员接受培训并在跳跃中妥善安抚实验动物情绪。正式实验前, 设计 3 d 的适应性跳跃, 分别为第 1 天 50 次、第 2 天 100 次、第 3 天 150 次。实验兔在进行适应性跳跃后, 可以在电流刺激开始前的情况下形成惯性主动跳跃。正式试验为每日 150 次合格跳跃, 分 10 组完成, 每组 15 次, 完成 1 组需要 3 min, 平均跳跃速度为 0.083 次/s, 每组完成后实验兔原地休息 3 min, 第 4 组与第 8 组后延长休息时间至 6 min(目的是控制跳跃质量), 每日总训练时长约 70 min。对照组不进行任何跳跃训练。

### 1.3 样品处理

完成相应训练 24 h 后戊巴比妥钠(浓度 25%, 剂量 40 mg/kg)腹腔注射处死动物, 沿实验兔后肢长轴剪开膝关节表面皮肤, 取下髌骨-髌腱-胫骨复合体, 切分为 PPTJ 与 TPTJ, 10% 福尔马林溶液固定 24 h, 10% 甲酸脱钙, 70% 乙醇保存。经常规脱水处理(ASP 200 S, Leica 公司, 德国)后。石蜡包埋(Leica 公司, 德国), 结合部沿矢状面切开 1/2 分别包埋。石蜡切片机(RM 2235, Leica 公司, 德国)将组织制为  $7\ \mu\text{m}$  切片, 烤箱  $60\ ^\circ\text{C}$  加热 2 h 脱蜡待染。

### 1.4 组织染色

所有切片进行 HE 染色(苏木素与伊红染色液 G1140、G1110, 购置于北京索莱宝科技有限公司)与免疫组化(一抗比例 1:100, 抗体型号 bs-0812R、bs-6312R、bs-0086R; 试剂盒 SP-0022、SP-0023, 均购置于北京博奥森生物技术有限公司)处理。

### 1.5 图像采集

经组织染色后的切片在光学显微图像采集系统(Eclipse 50i, Nikon 公司, 日本)拍片。HE 拍摄情

况为 20 倍 1 张、40 倍 1 张、100 倍 3 张; 免疫组化拍摄情况为 20 倍 1 张、100 倍 3 张、400 倍 5 张。拍摄标准为 PPTJ 髌尖向左下方  $45^\circ$ , TPTJ 髌腱-胫骨结合处的长条形空隙水平横向置于画面 1/2 处。图像保存为 TIF 格式。

### 1.6 测试指标

① 在 HE 染色结果图下定性分析骨髓结合部肌腱、软骨、骨细胞的形状与分布、胶原形态、潮线等形态组织学表现; ② 在 HE 与免疫组化染色结果图下使用 MetaMorph 7.7 定量测量纤维软骨带厚度、细胞密度与免疫组化阳性指标数, 软骨带厚度与细胞密度在 100 倍 HE 图像测定 3 张取平均值, 免疫组化阳性指标在 400 倍免疫组化图像测定 5 张取平均值, 细胞密度测定为骨髓结合部位每  $10\ 000\ \mu\text{m}^2$  中的所有紫色细胞数(包含腱细胞与软骨细胞)。

### 1.7 统计学处理

跳跃时长为自变量, PPTJ 与 TPTJ 分别为因变量行单因素方差分析, 两两比较使用 LSD 法( $P < 0.05$ ); 相同干预条件下的 PPTJ 与 TPTJ 之间行配对  $t$  检验( $P < 0.05$ )。指标为细胞密度、软骨带厚度、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TGF- $\beta$ 1, 结果用均数  $\pm$  标准差描述。为使配对  $t$  检验的结果更加直观, 将两部位指标结果按照对照组 PPTJ 的平均值进行标准化所示。

## 2 实验结果

### 2.1 组织形态学结果

图 1 为 HE 染色图像和偏振光图像。对照组 PPTJ 与 TPTJ 比较: 肌腱细胞核为梭形, 软骨细胞核为圆形, 未见细胞核聚集, 腱区的胶原纤维呈现波浪状规律排列, 骨区常见空腔结构, 非钙化纤维软骨、钙化软骨与骨之间可见清楚分层。TPTJ 纤维软骨区与钙化的软骨区之间见一弧形潮线, PPTJ 未见潮线; TPTJ 肌腱与软骨细胞比 PPTJ 紧凑, TPTJ 的软骨区域总面积大于 PPTJ; 偏振光图像观察可得, TPTJ 的胶原排列紧密程度高于 PPTJ。

J1 组 PPTJ 与 TPTJ 比较: 与对照组相比, PPTJ 与 TPTJ 可见轻微细胞聚集, 其中, PPTJ 细胞聚集更加显著; PPTJ 可见潮线, TPTJ 潮线与对照组比无显著改变, 二者相比可得 TPTJ 潮线平滑度更甚; 偏振



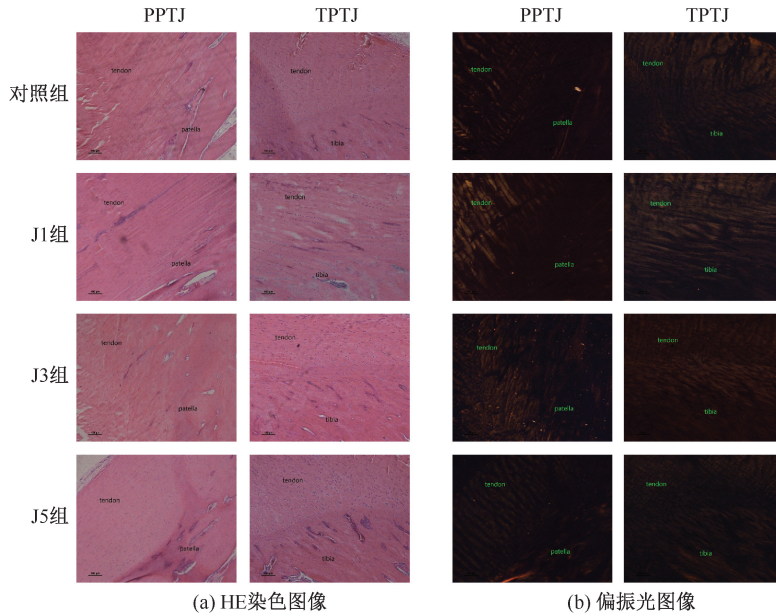


图1 HE 显微成像图

Fig. 1 HE microscopic imaging diagrams (a) HE staining images, (b) Polarized light images  
注:放大倍数为 100。

光图像观察可得,胶原形态在两部位中未发生显著改变。

J3组:与J1组相比,PPTJ胶原间隙变大,排列紧密程度明显低于TPTJ;两部位潮线边缘模糊,PPTJ程度更甚。

J5组:与J3组相比,PPTJ与TPTJ可见进一步

的细胞聚集;PPTJ潮线出现不规则形状,TPTJ潮线维持圆弧形且比PPTJ清晰。

## 2.2 定量指标结果

图2为IL-1 $\beta$ 、TGF- $\beta$ 1、IL-6免疫组化图像,根据400倍下免疫组化图像计算IL-1 $\beta$ 、TGF- $\beta$ 1、IL-6的定量结果。

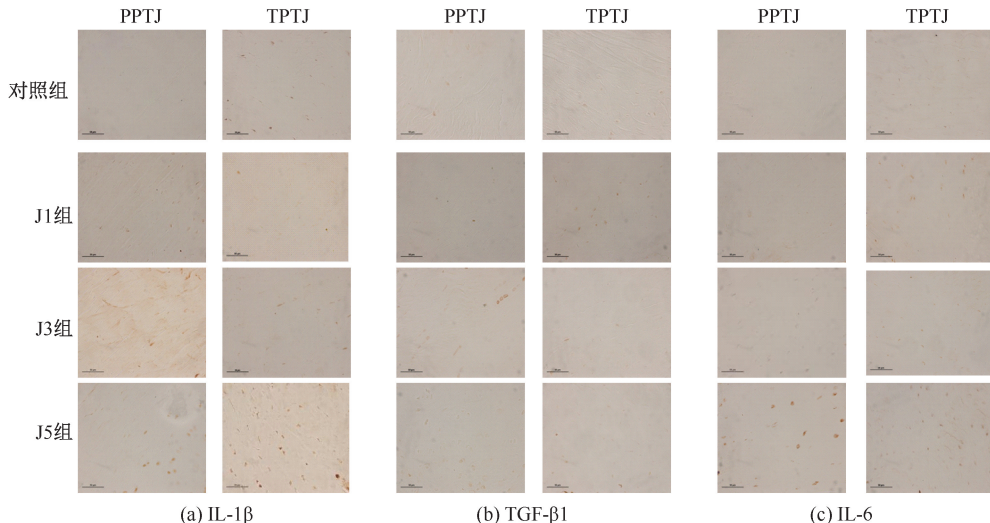


图2 免疫组化结果

Fig. 2 Immunohistochemical results (a) IL-1 $\beta$ , (b) TGF- $\beta$ 1, (c) IL-6  
注:放大倍数为 400。

由表1各指标单因素方差分析结果可见,跳跃天数对PPTJ的IL-1 $\beta$ 、IL-6以及TPTJ的软骨带

厚度有显著性影响,故对这3项指标进行两两比较。

表1 跳跃天数对各指标单因素方差分析结果

Tab. 1 Effects of jumping days on one-way ANOVA results of each index

指标	PPTJ	<i>P</i>	TPTJ	<i>P</i>
细胞密度(个/10 <sup>4</sup> $\mu\text{m}^2$ )	9.05 $\pm$ 1.14	0.958	10.36 $\pm$ 2.12	0.897
软骨带厚度/ $\mu\text{m}$	353.03 $\pm$ 89.22	0.554	405.50 $\pm$ 82.42	0.012*
IL-1 $\beta$ (个/400倍视野)	11.90 $\pm$ 10.06	0.028*	21.57 $\pm$ 10.88	0.100
IL-6(个/400倍视野)	14.72 $\pm$ 7.71	0.003*	25.24 $\pm$ 6.23	0.887
TGF-1 $\beta$ (个/400倍视野)	7.68 $\pm$ 9.59	0.438	10.68 $\pm$ 6.39	0.985

由图3可见,在PPTJ中,J5组IL-1 $\beta$ 显著大于对照组与J1组( $P<0.05$ );在PPTJ中,J5组IL-6显著大于对照组与J1组,J3组IL-6显著大于对照组

( $P<0.05$ );在TPTJ中,J5组软骨带厚度明显大于对照、J1、J3组( $P<0.05$ )。

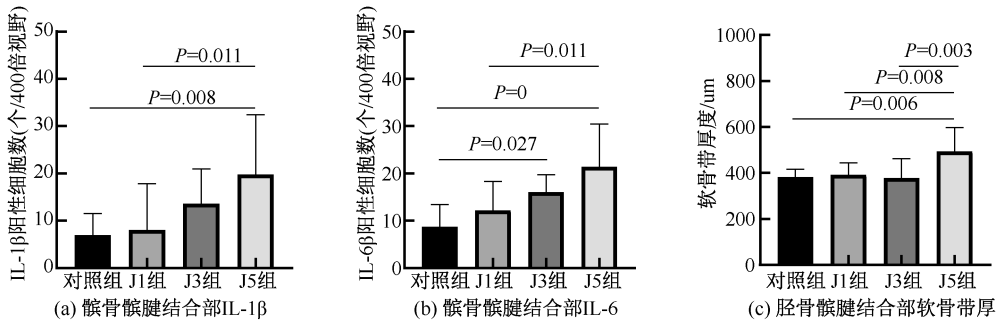


图3 PPTJ中IL-1 $\beta$ 、IL-6表达量与TPTJ中软骨带厚度比较结果

Fig. 3 Comparison between the expressions of IL-1 $\beta$  and IL-6 in PPTJ and the thickness of cartilage band

in TPTJ (a) IL-1 $\beta$  of PPTJ, (b) IL-6 of PPTJ, (c) Cartilage thickness of TPTJ

PPTJ与TPTJ软骨带厚度与细胞密度在任意组内均无显著性差异( $P>0.05$ ),见表2。对照组PPTJ的IL-1 $\beta$ 与IL-6显著少于TPTJ( $P<0.05$ );J1组PPTJ的IL-1 $\beta$ 、TGF- $\beta$ 1、IL-6显著少于TPTJ( $P<0.05$ );J3组PPTJ的IL-6显著少于TPTJ( $P<0.05$ ),见表3。

表2 PPTJ与TPTJ细胞密度与软骨带厚度配对*t*检验结果

Tab. 2 Paired *t* test results for cell density and cartilage thickness of PPTJ and TPTJ

组别	部位	细胞密度	<i>P</i>	软骨带厚度	<i>P</i>
对照	PPTJ	1.00 $\pm$ 0.14	0.105	1.00 $\pm$ 0.19	0.056
	TPTJ	1.14 $\pm$ 0.15		1.21 $\pm$ 0.11	
J1	PPTJ	0.98 $\pm$ 0.15	0.106	1.15 $\pm$ 0.29	0.426
	TPTJ	1.15 $\pm$ 0.25		1.24 $\pm$ 0.17	
J3	PPTJ	0.97 $\pm$ 0.12	0.326	1.13 $\pm$ 0.38	0.672
	TPTJ	1.07 $\pm$ 0.25		1.20 $\pm$ 0.27	
J5	PPTJ	1.00 $\pm$ 0.11	0.156	1.20 $\pm$ 0.23	0.059
	TPTJ	1.15 $\pm$ 0.27		1.56 $\pm$ 0.33	

表3 PPTJ与TPTJ免疫组化指标配对*t*检验结果

Tab. 3 Paired *t* test results for immunohistochemical indexes of PPTJ and TPTJ

组别	部位	IL-1 $\beta$	TGF- $\beta$ 1	IL-6
对照	PPTJ	1.00 $\pm$ 0.70	1.00 $\pm$ 1.00	1.00 $\pm$ 0.54
	TPTJ	3.98 $\pm$ 1.31 <sup>^</sup>	1.54 $\pm$ 1.06	2.81 $\pm$ 0.86 <sup>#</sup>
J1	PPTJ	1.16 $\pm$ 1.41	0.55 $\pm$ 0.77	1.65 $\pm$ 0.69
	TPTJ	3.57 $\pm$ 1.64 <sup>^</sup>	1.58 $\pm$ 0.77 <sup>Δ</sup>	3.06 $\pm$ 0.68 <sup>#</sup>
J3	PPTJ	2.05 $\pm$ 1.07	1.74 $\pm$ 2.47	1.89 $\pm$ 0.46
	TPTJ	2.59 $\pm$ 1.06	1.66 $\pm$ 0.84	2.90 $\pm$ 0.92 <sup>#</sup>
J5	PPTJ	2.85 $\pm$ 1.82	1.40 $\pm$ 0.92	2.47 $\pm$ 1.05
	TPTJ	2.37 $\pm$ 1.86	1.72 $\pm$ 1.17	2.78 $\pm$ 0.60

注:<sup>^</sup>相同干预下PPTJ与TPTJ之间IL-1 $\beta$ 比较, $P<0.05$ ;<sup>Δ</sup>相同干预下PPTJ与TPTJ之间TGF- $\beta$ 1比较, $P<0.05$ ;<sup>#</sup>相同干预下PPTJ与TPTJ之间IL-6比较, $P<0.05$ 。

### 3 讨论

3.1 短期跳跃负荷对兔髌腱起止点组织形态影响  
健康的骨髓结合部组织结构分层清晰、细胞分布均匀且潮线清晰圆滑,胶原纤维呈现波浪状。波

浪状结构在受力时可分散应力,避免肌腱轻易断裂<sup>[13]</sup>。跳跃组中,髌腱起止点在外力负荷下,加快了胶原与基质的合成速度,新陈代谢增快,纤维软骨区扩大,造成潮线形态改变、边缘模糊与上涨等情况,肌腱无法良好地平衡现有的应力刺激,原有的波浪状结构紊乱,相应功能下降<sup>[14]</sup>。Cook等<sup>[15]</sup>将腱病划分为3个阶段:第1阶段为反应性腱病,即肌腱受到急性超负荷后作出的反应,其本质是一种急性、非炎性增殖反应;第2阶段为肌腱修复失败(但能愈合)阶段,在该阶段腱病还未真正形成,此时减小负荷量或采取正确的康复措施,可以使肌腱向健康转变;第3阶段则为肌腱退行性病变,由于第2阶段肌腱并未得到良好的恢复,使得腱病最终形成。由于它是一个连续统一体,负荷的增减是影响这一进程向前或向后发展的主要因素<sup>[14,16]</sup>。本文结果表明,负荷强度不变,随着负荷量逐步积累,PPTJ与TPTJ的微细结构损伤也逐步加重。本实验结果在短期负荷条件下得出,与江大雷等<sup>[17]</sup>在4周跳跃负荷条件下实验兔PPTJ产生微细结构损伤的研究结果一致。在相同的短期负荷下,TPTJ的组织形态学表现优于PPTJ,这是由于健康情况下的PPTJ胶原纤维排列紧密程度、腱细胞与软骨细胞紧凑度都低于TPTJ,使得面对相同负荷时,产生的适应性反应有所差距。

在骨腱结合部损伤修复的早期,瘢痕形成使组织连续性增加,同时激活软骨细胞的增殖分化,造成细胞密度增大<sup>[18]</sup>。当组织受到持续不断的负荷刺激时,以上进程就会被激活,这是一种适应性反应。本文结果显示,短期跳跃负荷并未对细胞密度产生显著影响,原因是负荷时间较短,负荷积累未达到激发以上进程的阈值。在衡量骨腱结合部的损伤愈合进程时,纤维软骨带厚度常被作为重要指标。纤维软骨带厚度增加是骨腱结合部经受外力刺激后纤维软骨细胞增殖的结果,它的增加使骨与肌腱间接触面增多,应力得到分散。该现象会随着负荷的积累持续发生,增强相应部位的抗拉力<sup>[5]</sup>。软骨带厚度增加常被看作是一种正面的适应性反应,但有时软骨带厚度的突然大量增加或减少有可能减弱骨腱结合部的组织柔韧性和抗牵拉性能。本文发现,5 d跳跃负荷使TPTJ的软骨带厚度显著增加,此时的潮线随着软骨细胞增多而向肌腱区域

发展,是TPTJ在外力刺激下产生的适应性行为。相同负荷下微细损伤更为严重的PPTJ却并未发生明显的软骨带厚度增加,由此推测,此时TPTJ软骨带厚度增加有助于平衡外力刺激,帮助提高肌腱的自我修复能力。

### 3.2 短期跳跃负荷对兔髌腱起止点相关因子表达量影响

关于髌腱病中是否存在活动性炎症仍存在争论,目前尚不清楚炎症是否在髌腱病中起重要作用。IL-1 $\beta$ 是炎症反应中最常见的细胞因子指标,与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)降解、炎症介质IL-6、COX-2、PGE2以及胶原的生成均有关系<sup>[19]</sup>。TGF- $\beta$ 1与损伤愈合过程中纤维化的病理变化密切相关,因为它影响EMC中胶原、纤连蛋白和蛋白聚糖的基因表达<sup>[20]</sup>。组间比较结果显示,3 d负荷使PPTJ中IL-6表达量显著增加,5 d负荷使PPTJ中IL-1 $\beta$ 、IL-6表达量显著增加,并未对TPTJ中炎症因子表达量造成显著影响。前人研究得出,IL-1 $\beta$ 的基因和蛋白表达在肌腱损伤或愈合的早期有增加的趋势<sup>[10,21]</sup>,与本文中PPTJ结果一致。对照组结果显示,健康的PPTJ中IL-1 $\beta$ 、IL-6表达量显著少于TPTJ,而TGF- $\beta$ 1表达量无显著差异,即二者炎症反应能力存在差异,而纤维化程度无显著差距。随着负荷的积累,两结合部IL-1 $\beta$ 、IL-6的差异性开始消失,原因是跳跃负荷使PPTJ的IL-1 $\beta$ 、IL-6表达量显著上升。IL-1 $\beta$ 、IL-6在两结合部中反应不同的原因是健康状况下其表达即有所差别,导致二者在外力负荷下的炎症应答机制不同。1 d负荷下,组间结果显示此时PPTJ与TPTJ各自TGF- $\beta$ 1并未显著改变,但却使J1组内两部位的TGF- $\beta$ 1表达量开始产生差异,随着负荷进一步积累,差异继而消失。产生差异是由于PPTJ的TGF- $\beta$ 1在此时有微小下降,但此下降在统计学上不具有意义。TGF- $\beta$ 1在损伤微环境中会高度表达,促进肌成纤维细胞分化和损伤肌腱中的瘢痕形成<sup>[22]</sup>。J1组中PPTJ与TPTJ并未出现明显的微细结构损伤,所以此时细胞因子的变化与组织学结果相符。Liu等<sup>[6]</sup>的跳跃致实验兔PPTJ损伤模型显示,在负荷积累到4周时观测到TGF- $\beta$ 1表达量显著提高,与本文结果不符,原因是该研究跳跃干预时限较长。PPTJ与TPTJ为髌腱的起点与止点,均由腱细胞、纤维软



骨、钙化软骨与骨组织构成,虽然组织结构分层相同,但由于其胶原纤维的致密程度、腱细胞与软骨细胞紧凑程度、细胞因子表达量在健康情况下即有不同,并且在跳跃过程中两部位受力不同,故面对相同的外力负荷所产生的应答措施也有不同。

综上所述,当相同的短期跳跃负荷作用于实验兔骨腱结合部时,PPTJ的适应性能力较TPTJ更弱。从PPTJ角度而言,其受损时炎症因子有明显上调,说明炎症在PPTJ受损早期有参与作用,但在TPTJ受损早期并未发生活跃作用。造成以上结果的原因是PPTJ和TPTJ在健康状况下组织结构致紧密度有差异,细胞因子表达量不同。

#### 4 结论

短期跳跃负荷致PPTJ病理改变早于TPTJ;在短期跳跃负荷下的受损过程中,兔PPTJ炎症因子IL-1 $\beta$ 、IL-6上调,而兔TPTJ则无明显炎症因子变化。本研究结果为髌腱病的发病机制提供实验室依据。

#### 参考文献:

- [ 1 ] WANG L, XIONG K, WANG B, *et al.* Effects of time to start training after acute patellar tendon entheses injuries on healing of the injury in a rabbit model [J]. *Am J Sports Med*, 2017, 45(10): 2405-2410.
- [ 2 ] BENJAMIN M, TOUMI H, RALPHS JR, *et al.* Where tendons and ligaments meet bone: Attachment sites ('entheses') in relation to exercise and/or mechanical load [J]. *J Anat*, 2010, 208(4): 471-490.
- [ 3 ] HUTCHISON MK, HOUCK J, CUDDEFORD T, *et al.* Prevalence of patellar tendinopathy and patellar tendon abnormality in male collegiate basketball players: A cross-sectional study [J]. *J Athl Train*, 2019, 54(9): 953-958.
- [ 4 ] FAN L, XU B, LIU N, *et al.* Histopathological changes in patellar tendon entheses of rabbit induced by electrical stimulation intensity [J]. *J Orthop Sci*, 2020, 25(2): 344-348.
- [ 5 ] 刘春雨, 韩小燕, 王琳. 腱病相关概念与机制的争论 [J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(2): 282-288.
- [ 6 ] LIU H, GAO F, LIANG X, *et al.* Pathogenesis and development of patellar tendon fibrosis in a rabbit overuse model [J]. *Am J Sports Med*, 2020, 48(5): 1141-1150.
- [ 7 ] POTTER RM, HUYNH RT, VOLPER BD, *et al.* Impact of TGF-beta inhibition during acute exercise on Achilles tendon extracellular matrix [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2017, 312(1): R157-R164.
- [ 8 ] 王琳, 吕红斌, 霍碧君, 等. 兔髌骨-髌腱结合部新骨形成与大小预测其愈合程度 [J]. *医用生物力学*, 2006, 21(4): 291-297.
- [ 9 ] WANG L, LV HB, HUO BJ, *et al.* New bone formation and its size predicts the repair at patella-patellar tendon healing complex in rabbits [J]. *J Med Biomech*, 2006, 21(4): 291-297.
- [ 9 ] 秦岭, 陈俊伟, 符立勤, 等. 兔髌骨-髌腱复合体中骨-骨愈合和骨-腱愈合的比较研究 [J]. *医用生物力学*, 2003, 18(2): 65-70.
- [ 10 ] QIN L, CHEN JW, FU LQ, *et al.* Bone to bone repair and bone to tendon healing in patella-patellar tendon complex: A comparative study in rabbits [J]. *J Med Biomech*, 2003, 18(2): 65-70.
- [ 10 ] MORITA W, DAKIN SG, SNELLING SJB, *et al.* Cytokines in tendon disease: A systematic review [J]. *Bone Joint Res*, 2017, 6(12): 656-664.
- [ 11 ] 张冲, 李莉. TGF- $\beta$ 1 对大鼠肩袖损伤修复术后腱-骨愈合的影响 [J]. *医用生物力学*, 2016, 31(2): 167-170.
- [ 11 ] ZHANG C, LI L. Effects of TGF- $\beta$ 1 on early tendon-bone healing after reconstruction of rotator cuff tears in rats [J]. *J Med Biomech*, 2016, 31(2): 167-170.
- [ 12 ] PARK GS, AN MK, YOON JH, *et al.* Botulinum toxin type A suppresses pro-fibrotic effects via the JNK signaling pathway in hypertrophic scar fibroblasts [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 311(10): 807-814.
- [ 13 ] 龚虎臣, 门玉涛, 赵忠海, 等. 胶原纤维束对软骨力学性能的影响 [J]. *医用生物力学*, 2020, 35(6): 705-711.
- [ 13 ] GONG HC, MEN YT, ZHAO ZH, *et al.* Effects of collagen fiber bundle on mechanical properties of articular cartilage [J]. *J Med Biomech*, 2020, 35(6): 705-711.
- [ 14 ] SARMIENTO P, LITTLE D. Tendon and multiomics: Advantages, advances, and opportunities [J]. *NPJ Regen Med*, 2021, 6(1): 61.
- [ 15 ] MCCREESH K, LEWIS J. Continuum model of tendon pathology-where are we now? [J]. *Int J Exp Pathol*, 2013, 94(4): 242-247.
- [ 16 ] COOK JL, PURDAM CR. Is tendon pathology a continuum? A pathology model to explain the clinical presentation of load-induced tendinopathy [J]. *Br J Sports Med*, 2009, 43(6): 409.
- [ 17 ] 江大雷. 连续跳跃条件下兔髌骨髌腱结合部组织形态学及相关生长因子表达特征 [J]. *天津体育学院学报*, 2016, 31(2): 141-146.
- [ 18 ] 王博, 王琳. 低强度循环载荷训练对髌骨髌腱结合部损伤和髌骨微细结构的影响 [J]. *成都体育学院学报*, 2016, 42(2): 88-92.
- [ 19 ] MCCLELLAN A, EVANS R, SZE C, *et al.* A novel mechanism for the protection of embryonic stem cell derived tenocytes from inflammatory cytokine interleukin 1 beta [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 2755.
- [ 20 ] JIANG N, ZHANG Z, SHAO X, *et al.* Blockade of thrombospondin-1 ameliorates high glucose-induced peritoneal fibrosis through downregulation of TGF-beta1/Smad3 signaling pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(1): 364-379.
- [ 21 ] JOMAA G, KWAN CK, FU SC, *et al.* A systematic review of inflammatory cells and markers in human tendinopathy [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2020, 21(1): 78.
- [ 22 ] MORITA W, SNELLING SJ, DAKIN SG, *et al.* Profibrotic mediators in tendon disease: A systematic review [J]. *Arthritis Res Ther*, 2016, 18(1): 269.