

基础研究

腰椎间盘突出后 MRI 表现及组织学改变的实验研究

任东风, 侯树勋, 彭宝淦, 吴闻文

(解放军第 304 医院骨科实验室 100037 北京市阜成路 51 号)

【摘要】目的:探讨山羊腰椎间盘突出后不同时间点 MRI 表现和组织学改变。**方法:**15 只山羊, 人为刺伤 L5/6 椎间盘前纤维环全层和 L6/7 后部纤维环内层, 在伤后 3 周、3 个月、6 个月进行腰椎 MRI 检查观察髓核和纤维环的信号改变, 光镜下观察实验椎间盘后部纤维环组织学改变。**结果:**L6/7 椎间盘损伤后部纤维环内层后, 在实验期间未发生愈合, 通过 MRI 定性、定量分析发现, 椎间盘出现退变, 并随时间进行性加重(3 周、3、6 个月), 且退变过程较 L5/6 加速。T2 像上未发现一例出现 HIZ。**结论:**经山羊椎间盘前方损伤后部纤维环内层后, 纤维环内层很难愈合, 早期出现椎间盘退变。

【关键词】椎间盘; 纤维环; 损伤; MRI; 退变

中图分类号: R681.5, R361 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2006)-02-0142-05

A study of histology and MRI in goat lumbar intervertebral disc after lesion/REN Dongfeng, HOU Shuxun, PENG Baogan, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2006, 16(2):142~146

【Abstract】Objective: An in vivo study of histology and MRI of goat intervertebral disc after lesion in different time points.**Method:** The whole lamellae of the anterior annulus fibrosus of L5/6 intervertebral discs and the inner site of the posterior annulus fibrosus of L6/7 intervertebral discs of 15 Boer goats were stabbed, and lumbar MRI and histological test were performed after 3 weeks, 3 months and 6 months in order to observe the signal changes of nucleus pulposus and annulus fibrosus.**Result:** Inner part of L6/7 posterior annulus fibrosus disruption did not healed during experimental period, the qualitative and quantitative MRI revealed progressive severe intervertebral disc degeneration over time (in 3 weeks, 3, 6 months) compared with L5/6 intervertebral disc. Of all experimental intervertebral discs, no HIZ could be observed in MRI.**Conclusion:** After stabbing the posterior inner part of annulus fibrosus by anterior approach, it's hard to heal, which can result in early intervertebral disc degeneration.

【Key words】 Intervertebral disc; Annular stab; Injury; MRI; Degeneration

【Author's address】 Department of Orthopaedics, 304th Hospital of Chinese People's Liberation Army, Beijing, 100037, China

据估计 40% 的慢性腰痛是由椎间盘内破裂 (internal disc disruption, IDD) 引起^[1]。椎间盘的退行性改变是其常见的病因, 但椎间盘内破裂并不等于一定有退变。有关 IDD 的病因有多种推测, 创伤可能是其中的一个原因。但椎间盘内部急性损伤后将经历一个怎样的病理变化一直不是很清楚。MRI 是最敏感的评价椎间盘疾病的检查方法, 有无创、安全等优点, 可以很好地显示椎间盘的退行性改变^[2,3]。本研究人为损伤山羊椎间盘, 观察其在不同时间点椎间盘的 MRI 影像表现

和组织学变化。

1 材料和方法

1.1 实验动物

预先在 10 只山羊腰椎标本上观察椎间盘的组织学特点, 测量相关的椎间盘参数, 确定穿刺限深。选 15 只 6 月龄山羊, 雌雄不分, 体重 15~25kg, 平均 18.5kg。所有动物手术前、全麻后摄取全腰椎 X 线片, 排除腰椎先天畸形和病变。

1.2 模型制作

实验动物肌注速眠新 (0.3ml/kg) 和氯胺酮 (40mg/kg) 进行全身麻醉, 剪去背中部和左肋部毛发, 取右侧卧位, 手术区分别用碘酒和酒精消

第一作者简介: 男 (1972-), 主治医师, 博士在读, 研究方向: 脊柱外科

电话: (010)83947526 E-mail: stonedance1972@yahoo.com.cn

毒,从肋床下缘约 4cm 偏离椎旁肌 2cm 纵形切开皮肤直到骨盆环。小心分离皮下组织、腹膜外脂肪和椎旁肌暴露 L3~L7 椎体前外侧(山羊有 7 个腰椎)。山羊髂嵴水平正对腰椎第 7 椎体,触摸到的腰椎间盘前方最凸点为椎间盘前正中点。仔细暴露出 L5/6 和 L6/7 椎间盘前方纤维环穿刺点,用穿刺针刀经 L6/7 椎间盘前正中 A 点平行于邻近上下终板小心刺入髓核,然后偏离正中向右 30°穿过髓核刺入后纤维环内侧 B 点,用一个阻挡控制穿刺深度 15mm(至纤维环内层,注意勿穿透后侧纤维环,图 1)。L5/6 同上述过程小心刺入髓核,但不刺入后侧纤维环。L4/5 椎间盘作为对照椎间盘,如上操作手术,暴露穿刺点,但不穿刺损伤纤维环。完成操作后,用不吸收线逐层缝合深、浅筋膜和皮肤。在整个操作过程中注意不破坏椎体的骨膜组织和上下终板。分别于术前、手术结束时和术后前 3d 肌注青霉素 25 万 U/kg。术后置于牧场,在通风、接受自然光照条件下圈养。

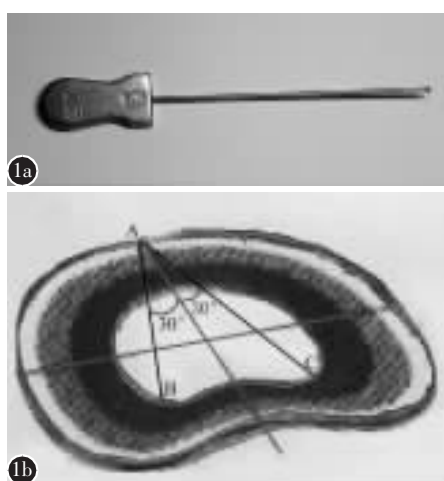


图 1 模型制备示意图
(a 穿刺刀 b 穿刺示意图)

1.3 MRI 评价

在术前对每只实验动物及术后各个实验时间点(3 周、3 个月、6 个月)随机选取 5 只实验动物行腰椎间盘 MRI 扫描。采用德国 Siemens 公司生产的超导型 MRI 扫描仪,腰部置表面线圈,磁场强度 1.5T,自旋回波脉冲序列成像。扫描参数:T1 加权为 TR/TE=500/8ms,T2 加权为 TR/TE=3500/100ms。矢状面厚度为 3mm。通过正中矢状位 T2 像上椎间盘所见,用修正的 Thompson 分类系统基于椎间盘髓核信号改变区域和程度将退变程

度分为 4 级:Ⅰ级,正常;Ⅱ级,信号密度轻微改变,但高信号区明显变窄;Ⅲ级,信号密度中度降低;Ⅳ级,信号密度严重降低。同时观察纤维环的信号改变:信号强度改变、在纤维环是否出现 HIZ、纤维环膨出情况。

参考文献方法^[4],通过 T2 正中矢状位加权像定量分析完整和损伤椎间盘的退行性改变。方法如下:每个椎间盘在屏幕上用鼠标描出髓核的轮廓,定义为 ROI(图 2)。ROI 的面积通过骨科计算机影像分析系统(青岛大学医学院附属医院山东省创伤骨科研究所研制)计算;平均信号强度 SI(灰度值)通过 Photoshop 8.0 计算。

平均信号强度 $SI = (SIA \times NA + SIB \times NB) / (NA + NB)$ 。其中 SI 代表平均信号强度,SIA、SIB 分别代表髓核赤道部(核内裂)上下区域的平均灰度值,NA、NB 分别代表相应区域的像素值。MRI 指数(髓核面积和平均灰度值的乘积)可用来详细评价髓核退行性改变。

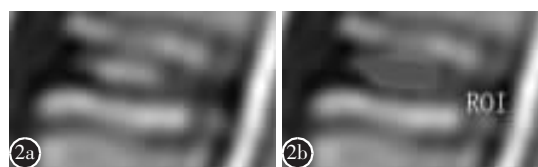


图 2 髓核面积的测量

(a 原始 MRI 的 T2 像 b MRI 上的髓核面积 ROI)

1.4 组织学评价

MRI 扫描后,立即处死动物,在 30min 内快速截取完整腰椎标本(L1~S2),用钢锯在正中矢状位切开标本,在福尔马林液中固定 1 周,EDTA 脱钙 8 周,轴向切取椎间盘组织块,石蜡包埋,间隔 250μm 的间距轴状位切取 5μm 厚度切片,分别 HE、Masson 染色,光学显微镜下观察椎间盘髓核和后外侧纤维环的形态特征。

1.5 统计学处理

将每个时间点针刺椎间盘 MRI 的量化数据与术前数值进行标准化处理,以百分数形式表达为均数与标准差,t 检验和方差分析时间和穿刺方式对椎间盘退变的影响, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 MRI 表现

在不同时间点实验椎间盘 MRI 的 T2 影像特

征见表 1~3 和图 3、4。L4/5 椎间盘髓核有 1 例(20%)在 6 个月时信号轻微降低,纤维环在各个时间点均无明显的信号改变。L5/6 椎间盘在 3 周时髓核和后纤维环信号均无明显改变;在 3 个月时,1 例(20%)髓核信号强度轻微降低,后外侧纤维环信号无改变;6 个月时,1 例(20%)髓核信号中等降低,1 例(20%)轻微降低。L6/7 椎间盘在 3 周时,1 例(20%)信号轻微降低,1 例(20%)后外侧纤维环信号无改变;在 3 个月时,2 例(40%)轻微降低,2 例(40%)髓核信号中等降低;在 6 个月时,1 例(20%)髓核信号轻微降低,3 例(60%)髓

核信号中等降低,1 例(20%)髓核信号严重降低,3 例(60%)纤维环向后外膨出(图 4b)。所有实验椎间盘没有 1 例椎间盘后外侧纤维环内出现高信号(HIZ)。

椎间盘损伤后,实验椎间盘在 3 周、3 个月、6 个月的髓核面积和平均信号强度及 MRI 指数见表 4。在术后 3 周,所有 L5/6 和 L6/7 髓核 MRI 数据较术前小,但无统计学意义;在 3 个月和 6 个月时下降明显,有统计学意义($P<0.05$)。在各个时间点 L6/7 髓核 MRI 数据都较 L5/6 小,在 6 个月时,其 MRI 指数差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.2 组织学观察

未损伤的 L4/5 椎间盘和纤维环在各个时间

表 1 损伤后 3 周时椎间盘 MRI 表现 (例)

	髓核退变程度				纤维环	
	1 级	2 级	3 级	4 级	膨出	出现 HIZ
L4/5	5	0	0	0	0	0
L5/6	5	0	0	0	0	0
L6/7	4	1	0	0	0	0

表 2 损伤后 3 个月时椎间盘 MRI 表现 (例)

	髓核退变程度				纤维环	
	1 级	2 级	3 级	4 级	膨出	出现 HIZ
L4/5	5	0	0	0	0	0
L5/6	4	1	0	0	0	0
L6/7	1	2	2	0	0	0

表 3 损伤后 6 个月时椎间盘 MRI 表现 (例)

	髓核退变程度				纤维环	
	1 级	2 级	3 级	4 级	膨出	出现 HIZ
L4/5	4	1	0	0	0	0
L5/6	3	1	1	0	0	0
L6/7	0	1	3	1	3	0

表 4 纤维环损伤后不同时间点髓核 MRI 图像测量 ($\bar{x}\pm s, \%$)

		髓核面积	髓核信号平均强度	MRI 指数
L4/5	术前	100	100	100
	术后 3 周	98.8 $\pm$ 10.4	96.9 $\pm$ 11.2	88.5 $\pm$ 11.6
	术后 3 个月	98.2 $\pm$ 12.9	96.0 $\pm$ 13.6	88.3 $\pm$ 14.2
	术后 6 个月	97.9 $\pm$ 11.7	95.7 $\pm$ 12.8	87.9 $\pm$ 14.7
L5/6	术前	100	100	100
	术后 3 周	92.7 $\pm$ 20.1	92.8 $\pm$ 21.3	84.7 $\pm$ 10.1
	术后 3 个月	78.8 $\pm$ 14.3 ^①	88.6 $\pm$ 20.2	71.6 $\pm$ 13.7 ^①
	术后 6 个月	71.5 $\pm$ 20.3 ^①	80.3 $\pm$ 17.7	59.4 $\pm$ 12.9 ^①
L6/7	术前	100	100	100
	术后 3 周	90.3 $\pm$ 17.2	90.3 $\pm$ 23.2	77.5 $\pm$ 15.8
	术后 3 个月	71.8 $\pm$ 15.4 ^①	78.2 $\pm$ 15.7 ^①	57.6 $\pm$ 14.7 ^{①②}
	术后 6 个月	60.5 $\pm$ 13.3 ^①	69.3 $\pm$ 24.3 ^{①②}	40.7 $\pm$ 14.8 ^{①②}

注:①与术前比较 $P<0.05$;②与 L5/6 比较 $P<0.05$

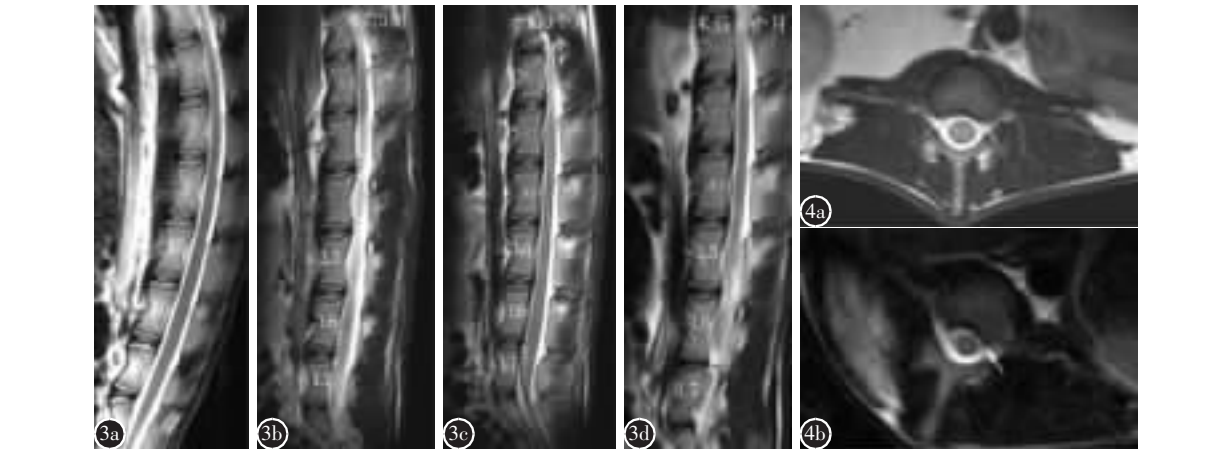


图 3 不同时间点山羊椎间盘 MRI T2 加权像(a 术前 b 术后 3 周 c 术后 3 个月 d 术后 6 个月) 图 4 山羊椎间盘轴状位 MRI 的 T2 像(a 正常椎间盘 b 术后 6 个月 L6/7 损伤处纤维环膨出)

点保持结构;前纤维环损伤的 L5/6 椎间盘,1 个在 6 个月时髓核内出现多个裂隙,纤维软骨排列不整齐,其内软骨样细胞增多,出现空泡样细胞,后部纤维环出现裂隙,有少量的肉芽组织出现,细胞密度增高;后部内纤维环损伤的 L6/7 椎间盘,在 3 周时,穿刺道处髓核纤维软骨排列杂乱,后外侧纤维环内层破裂处出现髓核组织,纤维软骨排列杂乱,其内软骨样细胞增多,靠近后纤维环损伤处外侧边缘周围组织增生,胶原纤维肿胀,并有崩解(图 5a,后插页 I),在 3 及 6 个月时在纤维环内部损伤处有软骨样细胞增生,在损伤道外部出现大量杂乱的毛细血管肉芽组织,并向中央生长,细胞密度较正常纤维环增高(图 5b,后插页 I)。

3 讨论

椎间盘内部结构的改变在腰痛的症状产生中起重要的作用,放射状撕裂被认为在椎间盘病理改变中起主要作用。放射状撕裂见于椎间盘的早期退变,撕裂从髓核延伸到纤维环外部,可导致局部腰痛和放射痛。40~50 岁时轻微退变的椎间盘最易受影响。放射状撕裂是椎间盘退变的重要标志,是椎间盘正常老化的结果,但一些放射状撕裂被考虑在椎间盘退变前就有,可能是椎间盘损伤的结果。生物力学研究发现,扭转和屈曲应力最易引起纤维环损伤^[5]。纤维环损伤后将经历一个怎样的病理过程,其与腰痛的发生有何关系,还不是十分清楚。人为造成纤维环边缘小的损伤(4~5mm)会进一步破坏椎间盘,最终完全破裂到椎间盘中央。同时,外部损伤处很快由血管肉芽组织愈合,纤维环内部、髓核由于无血管,椎间盘很难发生愈合^[6,7]。本实验结果与以往实验相似,L6/7 后部纤维环内层损伤后,在实验期末发生愈合,3 个月和 6 个月时在纤维环处有软骨样细胞增生,出现大量杂乱的毛细血管肉芽组织,细胞密度较正常纤维环增高,可能是损伤后试图修复的表现。

有研究证实,纤维环损伤可引起椎间盘退变的发生^[6-8]。Osti 等^[2]实验损伤绵羊纤维环后,通过定量生化检测评价椎间盘退变情况,发现术后 4~12 个月椎间盘开始退变。另一项对猪进行的实验研究显示,在 1~3 个月,就出现明显的退变。实验结果的差异可能是由于不同种属之间椎间盘生化组成不同的原因^[3]。本实验选用山羊作为实验动物,山羊椎间盘的解剖、生化结构特点与人椎间盘

极为接近。虽然姿态和负重模式与人有区别,但纤维环的自然破裂引起退变过程的机制相同。本实验显示,运用直径 1.2mm 的针刀经山羊椎间盘前方损伤后部纤维环内层后 3 个月出现退变,其中 3 例在 6 个月时出现椎间盘膨出。而对照间盘退变发生较晚,未出现膨出。分析原因,可能是内纤维环和髓核对退行性改变更敏感,穿刺过程中损伤髓核引起生化及结构的改变,从而加速退变发生。后部纤维环内层损伤后,椎间盘的力学性能改变也是重要原因。研究报道,椎间盘力学性能的改变可引起生化改变,反过来,早期退行性改变也影响纤维环力学性能,导致椎间盘高度丢失,出现膨出。本实验损伤山羊纤维环后显示了与人相似的退变过程。

磁共振检查是评价椎间盘退变最敏感的影像学方法,可以准确地显示椎间盘内部结构^[2,3,9]。与退变有关的椎间盘生化和结构的改变在 T2 像上表现为髓核信号强度明显降低,椎间高度下降。纤维环损伤后表现为膨出和 HIZ 的出现^[2,10,11]。本实验参考文献的方法^[9],采用 MRI 指数(髓核面积和平均信号强度的乘积)作为客观参数定量分析椎间盘退变情况。由于同时考虑了髓核面积和平均信号强度,因此较采用单个指标作为评价参数更准确,避免了较多的主观因素干扰、结果相对客观。纤维环放射状撕裂在高磁场 MRI 的矢状位 T2 像上表现为纤维环后部的一个高信号区(high-intensity zone, HIZ),周围被低信号密度区包围,信号强度与髓核接近或稍高,代表一个 4 级破裂(达拉斯椎间盘造影分级系统)^[12-14]。Aprill 和 Bogduk^[12]是第一个注意到在椎间盘造影中出现一致疼痛和 MRI 上的 HIZ 的阳性关系。他们认为 HIZ 可能是一个有价值的疼痛破裂椎间盘的标志^[12,13]。Lee^[14]认为, HIZ 代表继发于纤维环的炎症。彭宝淦等^[15]的研究发现,对应于 HIZ 部位的椎间盘组织表现为沿着纤维环裂隙形成的不同程度的血管化肉芽组织,有成熟的瘢痕化胶原组织,有新生的血管、肉芽组织。一项在小猪上进行的实验研究显示,针刺损伤纤维环后,在受损纤维环上出现 HIZ,组织学检查显示 HIZ 代表在髓核组织中的肉芽组织,认为 HIZ 可能是损伤不完全愈合的结果^[9]。本实验中所有实验椎间盘在实验期间均未发现 HIZ,虽然 L6/7 间盘在 3 个月和 6 个月时组织学显示在损伤通道外部出现大量杂乱的毛细

血管肉芽组织,但 T2 像上未出现 HIZ,可能是不同种属间的差异缘故,羊椎间盘纤维环较猪的有更多纤维成份,也可能是因为实验观察时间较短,有待进一步研究。

4 参考文献

1. Schwarzer AC, Derby R, Bogduk N, et al. The prevalence and clinical features of internal disc disruption in patients with chronic low back pain[J]. Spine, 1995, 20(16):1878-1883.
2. Milette PC. Classification, diagnostic imaging, and imaging characterization of a lumbar herniated disc [J]. Radiol Clin N Am, 2000, 38(11):1267-1292.
3. Cassar-Pullicino VN. MRI of the ageing and herniating intervertebral disc[J]. European Journal of Radiol, 1998, 27(4):214-228.
4. Sobajima S, Kompel J, Kim J, et al. A slowly progressive and reproducible animal model of intervertebral disc degeneration characterized by MRI, X-Ray, and histology[J]. Spine, 2005, 30(1):15-24.
5. Brown T, Hansen RJ, Yorra AJ. Some mechanical tests on the lumbosacral spine with particular reference to the intervertebral discs: a preliminary report [J]. J Bone Joint Surg (Am), 1957, 39(6):1135-1164.
6. Osti OL, Vernon-Roberts B, Fraser RD. Annulus tears and intervertebral disc degeneration: an experimental study using an animal model[J]. Spine, 1990, 15(6):762-767.
7. Kääpä E, Gränblad M, Hols S, et al. Neural elements in the normal and experimentally injured porcine intervertebral disk

[J]. Eur Spine J, 1994, 3(2):137-142.

8. Osti OL, Vernon-Roberts B, Moore R, et al. Annulus tears and intervertebral disc degeneration in the human lumbar spine: a post-mortem study of 135 discs [J]. J Bone Joint Surg (Br), 1992, 74(5):678-682.
9. Kerttula L, Kääpä E, Kurunlahti M, et al. MRI findings after an experimental disc lesion [J]. Journal of Musculoskeletal Res, 2001, 5(1):95-104.
10. Saifuddin A, Braithwaite I, White J, et al. The value of lumbar spine magnetic resonance imaging in the demonstration of annular tears[J]. Spine, 1998, 23(22):2453-2457.
11. Yu S, Haughton VM, Sether LA, et al. Criteria for classifying normal and degenerated lumbar intervertebral disks[J]. Radiol, 1989, 170(2):523-526.
12. Aprill C, Bogduk N. High-intensity zone: a diagnostic sign of painful lumbar disc on magnetic resonance imaging[J]. Br J Radiol, 1992, 65(4):361-369.
13. Ito M, Incorvaia KM, Yu SF, et al. Predictive signs of discogenic lumbar pain on magnetic resonance imaging with discography correlation[J]. Spine, 1998, 23(11):1252-1260.
14. Lam KS, Carlin D, Mulholland RC. Lumbar disc high-intensity zone: the value and significance of provocative discography in the determination of the discogenic pain source [J]. J Eur Spine, 2000, 9(1):36-41.
15. Peng B, Wu W, Hou S, ET AL. The pathogenesis of discogenic low back pain[J]. J Bone Joint Surg (Br), 2005, 87(1):62-67.

(收稿日期:2005-07-19 修回日期:2005-09-19)

(英文编审 蒋欣)

(本文编辑 卢庆霞)

消息

书 讯

由侯树勋、邱贵兴、陈仲强等几十位具有丰富经验的专家共同撰写,张光铂、梁智仁教授作序的《脊柱外科学》一书已在人民军医出版社正式出版发行。

该书共分九篇 51 章,以图文并重的形式,结合丰富的实际病例介绍,对脊柱外科各疾病的检查诊断、手术方法和技巧、并发症处理等进行了细致的论述,特别注重对新技术的理论和治疗手段的介绍,如微创脊柱外科技术等。

该书内容全面、系统,集科学性、实用性和先进性于一体,能帮助读者提升基础理论和手术技能,了解相关学科的新进展和新技术。

欢迎广大骨科医师,特别是从事脊柱外科,神经内、外科,以及颈腰疼痛治疗的专科医师购买。单价 198 元,全国各大书店均有售。如购买不便,可汇款至北京市复兴路 22 号甲 3 号 人民军医出版社邮购部 王兰收(100842),电话:(010)51927252。免邮资,款到即发。

