

特发性脊柱侧凸患者椎旁肌中胶原的表达及意义

陈建庭, 陈旭琼, 金大地

(南方医科大学南方医院脊柱骨病科 510515 广州市)

【摘要】目的:通过比较特发性脊柱侧凸(idiopathic scoliosis, IS)、先天性脊柱侧凸(congenital scoliosis, CS)顶椎凹凸侧椎旁肌和无脊柱侧凸患者椎旁肌的组织形态学改变及胶原蛋白表达的变化,探讨椎旁肌在 IS 发展中的作用机制。**方法:**分别取 IS 患者(A 组)、CS 患者(B 组)顶椎凹凸两侧及无脊柱侧凸患者(对照组, C 组)的椎旁肌,光镜和电镜下观察其组织学形态学改变;应用 Masson 三色染色法显示胶原蛋白的表达,图像分析系统测量各组胶原的阳性表达面积百分比;对各组结果采用 SPSS 13.0 软件进行统计学处理。应用免疫组织化学方法对 I 型和 III 型胶原染色,观察其在各组的表达情况。**结果:**光镜和电镜下均显示 A、B 组凹侧椎旁肌形态明显异常,胶原表达增强、分布紊乱;A、B 组凸侧椎旁肌及 C 组未见明显异常。A、B 组凹侧椎旁肌中阳性胶原面积的百分比分别为 0.255 ± 0.036 和 0.253 ± 0.023 ,明显高于凸侧(A、B 组分别为 0.057 ± 0.006 和 0.055 ± 0.002)及 C 组(0.056 ± 0.004),差异有显著性($P < 0.05$)。免疫组织化学染色示 A、B 两组凹侧椎旁肌中 I 型、III 型胶原表达无明显差异,而在凸侧椎旁肌中以 I 型胶原阳性者为主。**结论:**IS 患者凹侧椎旁肌形态明显异常,胶原表达增强且分布紊乱,其变化可能为 IS 的继发性改变。

【关键词】特发性脊柱侧凸;椎旁肌;胶原

中图分类号:R682.3 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2007)-04-0301-04

The expression and significance of collagen in the paraspinal muscles in idiopathic scoliosis/CHEN Jianting, CHEN Xuqiong, JIN Dadi//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2007, 17(4):301-304

【Abstract】Objective:To investigate the expression morphological status of collagen in the paraspinal muscles at the apex vertebrae of the curve in idiopathic scoliosis(IS) and congenital scoliosis(CS) and their role in the pathogenesis of IS.**Method:**Specimens of muscle were harvested from the paraspinal muscle at the apex of the curve in the cases with IS group(group A), CS(group B) and the control group(group C).The pathological changes of muscles were examined under light-microscope and electron-microscope.The cross-sections of muscles were stained with Masson Trichrome to show the expression of collagen and the percent of positive area(PA) was measured using image analysis system and analyzed statistically.Anti-collagen I and anti-collagen III antibodies were used to stain type I and III collagen.**Result:**Pathological change of the paraspinal muscles on the concave side in group A and B appeared more severe, while relatively normal on the convex side in group A and B and in group C.Collagen expression level increased and its distribution was abnormal. The percent of PA in concave side of paraspinal muscle in group A and B (0.255 ± 0.036 and 0.253 ± 0.023 respectively) was larger than that in convex side of paraspinal muscle in group A and B (0.057 ± 0.006 and 0.055 ± 0.002 respectively) and group C (0.056 ± 0.004) ($P < 0.05$). There were no difference with respect to the expression of type I and III collagen in paraspinal muscles in concave side of paraspinal muscle between group A and B, while type I collagen was evidenced more in the concave side of paraspinal muscles.**Conclusion:**The expression of collagen in the concave side of paraspinal muscle in IS increases, which may be secondary to IS.

【Key words】Idiopathic scoliosis; Paraspinal muscle; Collagen

【Author's address】Department of Spinal and Orthopedics Surgery, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, 510515, China

第一作者简介:男(1960-),医学硕士,博士生导师,研究方向:脊柱脊髓损伤,骨质疏松
电话:(020)62787190 E-mail:chenjt99@sina.com

近 20 年来,国内外学者对特发性脊柱侧凸(idiopathic scoliosis, IS)病因探索做了很多工作,但至今仍未获得明确的结果^[1,2]。骨骼肌内含丰富

的胶原组织, 损伤后的修复过程中肌纤维的再生与胶原的合成同时进行, 长期的固动作用可促进胶原合成, 形成疤痕, 从而抑制损伤区骨骼肌的修复和再生过程^[1], 最终将影响骨骼肌的功能。疤痕组织的形成是引起 IS 的原因还是继发于 IS, 目前仍未明确。本研究通过对 IS 患者椎旁肌的形态观察和胶原的表达检测, 探讨胶原在 IS 的发生发展中的作用机制。

1 材料和方法

1.1 标本来源及分组

选择 2005 年 7 月至 2006 年 11 月南方医科大学南方医院脊柱骨病科收治的部分患者做为研究对象。A 组, IS 患者 12 例, 男 3 例, 女 9 例, 年龄 12~17 岁, 平均 14 岁, Cobb 角 40°~125°, 平均 73.8°。B 组, 先天性脊柱侧凸 (congenital scoliosis, CS) 患者 5 例, 男 3 例, 女 2 例, 年龄 10~16 岁, 平均 13 岁, Cobb 角 15°~54°, 平均 36.0°。C 组 5 例, 为对照组, 男 2 例, 女 3 例; 腰椎间盘突出症 2 例, T10~L2 蛛网膜囊肿 1 例, T9~T10 椎管内神经鞘膜瘤 1 例, T4~T7 椎管内血管瘤 1 例; 年龄 13~19 岁, 平均 16 岁。所有患者术前均签署知情同意书。

1.2 纳入标准

①A 组: 根据国际脊柱侧凸学会 (SRS) 诊断标准, 诊断为 IS; 经问病史、查体及影像学检查排除了先天性及继发改变的脊柱侧凸, Cobb 角 > 40°。②B 组: 经 X 线检查明确该组患者为先天性椎体畸形导致的脊柱侧凸。③C 组: 经明确诊断为腰椎间盘突出症, 胸腰椎管内占位性病变, 经 X 线排除继发脊柱侧凸或/和后凸畸形的患者。④所有患者入院治疗时为初诊, 均为后路手术。

1.3 方法

1.3.1 标本取材及处理 A、B 组患者, 手术中取患者顶椎处凸侧、凹侧椎旁肌肉组织各一块; C 组, 取自术区椎旁肌一块。将所有标本修成大小约 1.0×0.8×0.8cm 和 0.1×0.1×0.1cm。大块应用 4% 的多聚甲醛常规固定后等分成 2 块, 规格 1.0×0.4×0.8cm, 进行常规包埋, 分别横切和纵切, 切片厚度为 0.5μm, 分别用于常规 HE 染色、Masson 三色染色及免疫组化染色。小块标本行 2.5% 戊二醛固定 2h 后, 1% 锇酸固定 2h, 逐级丙酮脱水, Spurr 环氧树脂包埋, 70℃聚合 20h。切片机超薄切片, 片厚 100nm, 用于电镜观察。

1.3.2 光镜及电镜下组织形态学观察 取各组厚切片常规 HE 染色后于光镜下、薄切片常规饱和醋酸铀、1% 柠檬酸铅染色后于 JEM1200-EX 透射电镜观察椎旁肌组织形态学改变情况。

1.3.3 Masson 三色染色 取各组切片分别行天青石蓝染色、Mayer 氏苏木素染色及丽春红苦味酸饱和液染色, 二甲苯透明后中性树胶封固。每张切片各随机取 6 个视野 (×200), 光镜下观察并照相。应用 Quantimet 520 显微图像分析软件测量视野内肌组织中胶原的阳性面积占总视野面积的百分比 (百分比值越大代表胶原表达越强), 比较各组间差异。

1.3.4 免疫组织化学染色 取各组切片应用 SP 法行免疫组织化学染色, 一抗分别为兔抗人 I 型或 III 型胶原蛋白抗体 (武汉博士德生物技术有限公司), 观察各组胶原表达情况, 阳性呈棕黄色。

1.4 统计学分析

所有值数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 同组凹凸两侧椎旁肌的胶原表达行 paired t-test 分析; 不同组间同侧椎旁肌与对照组椎旁肌的胶原表达比较应用 one-way ANOVA 分析, 两两比较用 SNK-q 分析, $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 光镜及电镜观察结果

光镜下 A 组顶椎凹侧椎旁肌组织纵切面上肌纤维横纹模糊、不均匀, 部分横纹消失, 肌纤维可见均质样变性、萎缩、玻璃样变性、颗粒变性、空泡变性、粘液变性, 灶性坏死; 可见部分肌纤维内核呈链状排列, 核减少至消失。横切面可见肌纤维水肿、轻度萎缩, 以肌束外围明显, 少量肌纤维内核位于肌纤维中央; 可见部分肌束萎缩, 变窄; 肌纤维周围结缔组织增生, 可见结缔组织长入肌束内; 肌纤维周围纤维组织增生、血管增生、血管壁增厚和管腔狭窄、瘀血, 肌纤维间脂肪细胞浸润 (图 1a, 后插页 II); 凸侧相对称部位的椎旁肌组织学形态也有类似改变, 但病变较轻 (图 1b, 后插页 II)。B 组与 A 组间同侧椎旁肌形态表现无明显区别。C 组椎旁肌在光镜下未见明显异常 (图 1c, 后插页 II)。电镜下 A 组凹侧椎旁肌肌丝排列十分松散, 肌丝扭曲, 区域性中断, Z 线、M 线不清, 线粒体减少、空化, 糖元增多, 肌膜下可见自噬体 (图 2a, 后插页 II); 凸侧表现为少数区域规则

性肌丝断裂, 波纹状改变, Z 线不齐或消失, M 线不齐, 线粒体扩张、脱颗粒(图 2b, 后插页 II)。B 组与 A 组间同侧椎旁肌形态表现无明显区别。C 组椎旁肌在电镜下未见明显异常(图 2c, 后插页 II)。

2.2 Masson 三色染色及测量结果

Masson 三色染色后胶原纤维呈蓝色, 细胞核呈灰黑色, 肌肉和胞质红细胞呈红色。A 组及 B 组患者凹侧椎旁肌中肌纤维周围胶原分布紊乱, 增多, 增粗, 可见位于肌束膜, 部分胶原侵入肌束内(图 3a, 后插页 II)。A 组、B 组患者凸侧及 C 组椎旁肌胶原表达阳性区分布均匀, 均位于肌束膜上(图 3b, 后插页 II)。各组椎旁肌中胶原阳性百分比测量结果见表 1。A 组、B 组凸侧与 C 组间, A 组与 B 组凹侧椎旁肌间胶原表达在统计学上均无显著性差异 ($P>0.05$); A、B 组凹侧椎旁肌胶原表达强于同组的凸侧及 C 组 ($P<0.05$)。

2.3 免疫组化染色观察结果

各组均可见 I 型和 III 型胶原阳性表达, A 组与 B 组凹侧椎旁肌中两种胶原表达间未见明显差异; A 组、B 组凸侧及 C 组椎旁肌中 I 型胶原表达较强(图 4, 后插页 II)。

表 1 各组椎旁肌中胶原染色阳性面积百分比

	n	$(\bar{x} \pm s)$	
		凹侧	凸侧
A 组 (IS 组)	12	0.255±0.036 ^{①②}	0.057±0.006 ^{②③}
B 组 (CS 组)	5	0.253±0.023 ^①	0.055±0.002 ^③
C 组 (对照组)	5	0.056±0.004	

注: ①与同组凸侧及 C 组比较 $P<0.05$; ②与同侧 B 组比较 $P>0.05$; ③与 C 组比较 $P>0.05$

3 讨论

本组通过对 IS 患者顶椎椎旁肌的形态观察发现, IS 患者凹侧椎旁肌病理变化较明显, 而凸侧椎旁肌相对正常, 这与文献报告相一致^[4]。IS 患者凹侧椎旁肌形态变化和胶原表达增强可能因脊柱侧凸畸形后, 脊柱向凹侧弯曲使脊柱本身因重力作用有向下弯曲趋势, 凹侧椎旁肌受力较少; 另外椎旁肌纤维相对于正常肌纤维缩短, 并因长期活动减少而造成一定程度上的挛缩, 引起肌纤维形态上学变化, 并因形态变化使正常椎旁肌活动范围进一步减少, 凹侧椎旁肌形成类似于肌肉制动作用, 故凹侧椎旁肌因废用性萎缩而使胶原

表达增加。凹侧椎旁肌因长期的制动作用, 没有牵张力的作用, 因此相对于正常骨骼肌组织中以 I 型为主来说, 在凹侧肌组织的挛缩过程中, III 型胶原表达与 I 型胶原表达无差别, 符合器官的功能与解剖结构之间的关系。本组观察结果表明, 凸侧椎旁肌组织胶原表达未见瘢痕组织生成, 也未见胶原表达的异常。其原因可能为脊柱侧凸畸形后, 凸侧椎旁肌因为脊柱的侧凸畸形而拉长, 并使凸侧椎旁肌受较大张力, 而仍然发挥着牵拉的力学作用, 其轻微的病理学改变可能与凸侧椎旁肌因牵拉力的作用而致肌组织轻度断裂损伤有关。

既往研究发现, 在 IS 椎旁肌凸侧以低强度、长时间运动的 I 型肌纤维为主, 凹侧以高强度、短时间运动的 II B 型肌纤维比例增加^[5-9]。郑斌等^[10]和周永德等^[11]研究发现在 IS 中凸侧椎旁肌以 T1 型终板为主, 凹侧以 T0 型终板为主, 反映出凸侧椎旁肌处于一种负荷锻炼后的改建过程中。这些研究从另一角度说明 IS 凸侧椎旁肌对脊柱的牵拉收缩作用, 而凹侧椎旁肌的废用萎缩。脊柱侧凸凹侧椎旁肌胶原生成过多, 对椎旁肌的伸展将产生一定程度上的限制, 影响侧凸矫正效果, 如能在术前应用保守治疗减少胶原形成, 或术中行椎旁肌松解, 可能会取得更好的矫正效果。

对 IS 和 CS 患者椎旁肌的胶原的染色检测发现, 在脊柱侧凸患者凸侧椎旁肌胶原表达与对照组比较无明显变化, 而凹侧胶原表达增强; IS 患者椎旁肌的胶原表达与已明确病因的 CS 同侧椎旁肌进行对比发现两组同侧椎旁肌胶原表达无差别, 故可认为 IS 椎旁肌病变为继发。由于本实验所取椎旁肌范围局限, 本实验结果只能代表椎旁肌某一范围内的病变。在更广范的椎旁肌中, 可能还存在导致 IS 病变的其他因素, 因此仍不能排除椎旁肌作为 IS 病因的可能。为明确椎旁肌在 IS 患者中的作用机制, 还需对 IS 患者椎旁肌进行更深入的研究。

4 参考文献

1. Ahn UM, Ahn NU, Nallamshetty L, et al. The etiology of adolescent idiopathic scoliosis[J]. Am J Orthop, 2002, 31(7): 387-395.
2. 王谓君, 邱勇. 青少年特发性脊柱侧凸发病机制研究进展[J]. 中国矫形外科志, 2005, 13(5): 380-382.
3. John MB, Peter J, Jacek C, et al. The effect of anabolic steroids and corticosteroids on healing of muscle contusion injury[J].

- Am J Sports Med, 1999, 27(1):2-12.
- 陈晓春, 朴成哲, 杨军, 等. 特发性脊柱侧弯椎旁肌改变与手术治疗相关性的研究[J]. 中国骨伤, 2000, 13(3): 131-132.
 - Bylund P, Jansson E, Dahlberg E, et al. Muscle fiber types in thoracic erector spinae muscles: fiber types in idiopathic and other forms of scoliosis [J]. Clin Orthop Relat Res, 1987, 214: 222-228.
 - Slager UT, Hsu JD. Morphometry and pathology of the paraspinal muscles in idiopathic scoliosis [J]. Dev Med Child Neurol, 1986, 28(6): 749-756.
 - Gonyea WJ, Moore-Woodard C, Moseley B, et al. An evaluation of muscle pathology in idiopathic scoliosis [J]. Pediatric Orthop, 1985, 59(3): 323-329.
 - Ford DM, Bagnall KM, McFadden KD, et al. Paraspinal muscle imbalance in adolescent idiopathic scoliosis [J]. Spine, 1984, 9(4): 373-376.
 - 吴亮, 邱勇, 王斌, 等. 脊柱侧凸椎旁肌纤维不对称性分布的研究[J]. 脊柱外科杂志, 2004, 2(5): 276-279.
 - 郑斌, 周永德, 吉士俊, 等. 青少年脊柱侧弯症椎旁肌神经终末支配的观察[J]. 中华骨科杂志, 1996, 16(6): 340-343.
 - 周永德, 郑斌, 顾耀明, 等. 脊柱侧凸与椎旁肌病理的相关因素[J]. 中华小儿外科杂志, 2003, 24(3): 211-214.
- (收稿日期: 2006-12-25 修回日期: 2007-01-30)
(英文编审 蒋欣)
(本文编辑 彭向峰)

个案报道

椎管内恶性黑色素瘤 1 例报告

胡侦明, 唐海, 郝杰, 陈浩, 王成日, 李永刚

(首都医科大学附属北京友谊医院骨科 100050 北京市)

中图分类号: R739.42 文献标识码: B 文章编号: 1004-406X(2007)-04-0304-02

恶性黑色素瘤多发于足底、外阴、腰、头颈等易摩擦部位, 椎管内恶性黑色素细胞瘤较少见, 原发于椎管内硬膜外的黑色素瘤近 10 年国内只报告过几例^[1,2], 而病变侵及椎体的恶性黑色素瘤更少见。我们收治 1 例, 报告如下。

患者女性, 54 岁。因胸背部疼痛 6 个月, 加重 1 个月, 双下肢麻木, 进行性加重, 行走困难, 出现双下肢不完全瘫 1 周, 于 2006 年 6 月 10 日收入院。患者 20 年前曾因甲状腺癌行甲状腺切除手术。体检: 体温 37.0℃, 血压正常, 营养可, 面色黑黄, 巩膜无黄染, 浅表淋巴结未触及肿大, 全身皮肤、粘膜无黑色素痣和黑色素沉着。T6、T7 棘突有压

痛和叩击痛; T6 平面以下痛觉减弱, 双下肢肌张力不高, 肌力 4 级, 巴彬斯基征阴性。X 线片示 T6 椎体轻度压缩, 椎间隙尚好。MRI 检查示 T5~T7 椎体及脊髓硬膜内外有高信号影, 病变侵入 T6 椎体水平脊髓内外, 椎旁有软组织肿块影(图 1、2), T12 椎体异常信号。CT 示 T6 节段椎管内占位性病变, 压迫脊髓, T6 椎体破坏伴周围软组织肿块(图 3); 核素扫描提示 T5、T6、T7、T12 放射性浓集。胸片示右肺上野条索影。术前诊断: T6、T7 椎体转移癌并不完全瘫。于 2006 年 6 月 16 日在全麻下经右胸行 T6、T7 椎体切除、胸椎重建术, 术中见 T5~T7 椎体前方软组织肿块, T6 椎体骨



图 1 MRI 矢状位示 T6、T7 椎体破坏, 病变侵入 T6 椎体水平脊髓内外 图 2 MRI 冠状位示 T6、T7 椎体破坏, 椎旁软组织肿块形成
图 3 CT 示 T6 椎体破坏伴周围软组织肿块, 椎管内硬膜外占位性病变压迫脊髓

(下转第 309 页)