

基础研究

Rolipram对大鼠急性脊髓损伤的保护作用

祁 全¹, 毕郑钢¹, 张 磊², 吴滨奇¹, 潘尚哈³, 朱 江¹

(1 哈尔滨医科大学附属第一医院骨科; 2 哈尔滨医科大学病理教研室;

3 哈尔滨医科大学附属第一医院中心实验室 150001 哈尔滨市)

【摘要】目的:研究磷酸二酯酶(IV)抑制剂 Rolipram 对大鼠急性脊髓损伤的保护机制。**方法:**健康 Waster 大鼠 70 只, Allen's 法(10g×2.5cm)打击制作脊髓损伤(SCI)模型。实验组伤后立即皮下注射 Rolipram 2.5mg/kg/d, 每天分 2 次注射, 至第 14 天; 对照组皮下注射与实验组相同剂量的生理盐水。分别通过 HE 染色, 免疫组化, 测定 6h、24h、72h、7d、14d 五个时间段病理变化及 B 细胞淋巴瘤-2 基因(bcl-2)表达, TUNEL 法测定 24h~7d 凋亡细胞水平, 并用放免方法测定各组大鼠给药 3h 和 6h 后脊髓中环磷酸腺苷(cAMP)含量。**结果:**脊髓损伤后, 对照组和实验组 TUNEL 阳性细胞在 24h~7d 均有表达, 多数为胶质细胞; 3~7d 时实验组凋亡细胞较对照组明显减少($P<0.05$)。脊髓损伤后 3~14d, 实验组 bcl-2 表达强于对照组($P<0.05$); 放免方法测定实验组(给药 3h 和 6h 时)脊髓 cAMP 明显高于对照组($P<0.05$)。**结论:**磷酸二酯酶抑制剂 Rolipram 对大鼠急性脊髓损伤具有一定保护作用, 这一作用可能通过多种途径, 升高细胞内 cAMP, 进而上调 bcl-2 等保护性基因是其中之一。

【关键词】磷酸二酯酶(IV)抑制剂; 脊髓损伤; 环磷酸腺苷(cAMP); 细胞凋亡; B 细胞淋巴瘤-2 基因(bcl-2)

中图分类号: R971, R683.2 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2008)-10-0766-05

Study of Rolipram on the neuroprotection of acute spinal cord injury in rat/QI Quan, BI Zhenggang, ZHANG Lei, et al/Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2008, 18(10): 766~770

【Abstract】 Objective: To study the neuroprotection of phosphodiesterase-4 inhibitor rolipram to the acute spinal cord injury of rats. **Method:** 70 healthy Waster rats were used in the experiment. Spinal cord injury(SCI) was performed with Allen's method. The blank group only received laminectomy. After injury, rolipram(2.5mg/kg) were used twice every day by hypodermical injection in experiment group, and 16% DMSO was used in the control group. The cAMP levels of the spinal cord in the experiment group at 27h and 30h (3h and 6h after rolipram injection in the first day after SCI) and in blank group and control group at 27h were evaluated by RIA. The pathological changes of spinal cord were observed by HE and immunohistochemistry method (Bcl-2) at five time points (6h, 24h, 3d, 7d, 14d). TUNEL staining was applied for observing apoptosis at 24h, 3d, 7d. **Result:** The pathological change under light microscope was similar in both experiment group and control group, but the inflammatory cell infiltration was not markedly in the former. The cAMP level of the Spinal cord in the experiment group at 3~6 h after rolipram was applied and in blank group were higher than that in control group ($P<0.05$). The positive expression of bcl-2 in marginal zone of experiment group was stronger than that of control group at 3d, 7d, 14d ($P<0.05$). The positive expression of TUNEL existed at 24h~7d in control group and experiment group. The most cells of TUNEL staining were glial cells. Apoptosis at 3d, 7d in experiment group decreased obviously compared to the control group ($P<0.05$). The positive cells of bcl-2 and TUNEL in the blank group were rare. **Conclusion:** Rolipram, which is phosphodiesterase-4 inhibitor, may have the protection to the rat spinal cord injury to some extent by several pathways. One of the possible pathways is the increasing of cAMP in cell and then up-regulating of bcl-2.

【Key words】 Phosphodiesterase-4 inhibitor; Spinal cord injury; CAMP; Apoptosis; Bcl-2

【Author's address】 Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin, 150001, China

基金项目: 黑龙江省青年基金资助项目 (QC06C073)、黑龙江省卫生厅基金资助项目 (2006-078)、黑龙江省教育厅基金资助项目 (10551170)、黑龙江省博士后资助项目、哈医大一院科研基金资助项目 (2007037)

第一作者简介: 男(1972-), 博士, 副主任医师, 研究方向: 脊柱脊髓损伤

电话: (0451)85555828 E-mail: qi quan999@sina.com

随着脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)的研究愈来愈深入, 研究人员正在寻找能有效保护脊髓、减少继发损伤、促进神经再生的临床用药。Rolipram——一种磷酸二酯酶 IV(PDE4)抑制剂, 最初用于抗抑郁症的药物再次进入了研究人员的视线, 用于脊髓损伤的动物实验治疗, 并发现它具有提高细胞内环磷酸腺苷(cAMP)的水平并促进了轴突再生的能力^[1,2]。为此, 本实验首先观察研究 Rolipram 对脊髓损伤后的细胞凋亡及 B 细胞淋巴瘤-2 基因 bcl-2 表达的影响, 探讨其机制。

1 材料与方法

1.1 材料

选取健康 Waster 大鼠 70 只, 雌雄不限, 体重 180~220g (哈尔滨医科大学第一临床医学院动物室提供)。Rolipram 溶于含 16% 二甲基亚砷(DMSO)的生理盐水中(Alex 公司, USA); TUNEL 细胞凋亡原位检测试剂盒(Roche 公司); bcl-2 兔单克隆抗体(购自 Santa cruz 公司), 二抗及 DAB 染色试剂盒(购自北京中杉生物公司); ¹²⁵I-cAMP 放射免疫分析(RIA)试剂盒(上海中医药大学)。

1.2 动物与分组

随机抽取 8 只作为空白组, 单纯进行椎板切除, 不损伤脊髓。对照组 29 只, 实验组 33 只, 采用 1% 戊巴比妥腹腔内注射麻醉(30mg/kg), 无菌条件下, T10 为中心咬除椎板, 暴露椎管, 显露脊髓硬膜, 此操作位于 10 倍手术显微镜下以减少副损伤。利用自制打击器采取 Allen's 法 (10g×2.5cm) 打击形成 SCI 模型。大鼠脊髓撞击成功标准为脊髓组织水肿, 硬膜下充血, 尾巴出现痉挛性摆动, 双后肢回缩样扑动后呈弛缓性瘫痪。打击成功后缝合切口。实验组伤后立即皮下注射 Rolipram 2.5mg/kg, 随后按 2.5mg/kg/d 剂量, 每天分 2 次给予, 至第 14 天。对照组皮下注射相同剂量含 16%DMSO 的生理盐水, 余处理相同。术后人工挤压膀胱帮助排尿, 每 8h 1 次, 到能自行排尿为止。出现死亡或感染者从组中撤除, 给予补充。

1.3 脊髓组织样本 cAMP 的提取及测定

损伤后第 1 天, 空白组(伤后 27h)、对照组(伤后 27h, 即注射 16%DMSO 后 3h)、实验组(伤后 27h, 即注射 Rolipram 后 3h)和实验组(伤后 30h, 即注射 Rolipram 后 6h)各取 4 只大鼠过量戊巴比妥钠麻醉处死, 取 T10 水平脊髓组织 50mg,

放入盛有 2ml 冷的 50mmol/L pH4.75 醋酸缓冲液的试管内(冰浴), 匀浆, 加入 2ml 无水乙醇, 混匀, 静止 5min, 3500r/min 离心 15min, 将上清收集在青霉素小瓶内, 再用 75%乙醇 2ml 加入沉淀, 匀浆分散, 混匀, 3500r/min 离心 15min。合并上清液, 60℃烘箱内烘干, 残渣放于 4℃冰箱保存。由黑龙江省医院放免科协助进行 ¹²⁵I-cAMP 放射免疫测定(具体操作见试剂盒)。

1.4 组织和细胞形态学观察及免疫组化检测

对照组和实验组分别在术后 6h、24h、72h、7d、14d 五个时间点处死大鼠, 每个时间点取 5 只大鼠和空白组 4 只共同进行病理学检测, 4%多聚甲醛(溶于 PBS, pH 7.4)心脏灌注固定, 切开背部, 打开椎管, 显露脊髓, 切断神经根, 将 T10 损伤段为中心, 1.5cm 脊髓节段取出, 将标本切成损伤中心长 5mm 段和头尾段三部分, 置于 4%多聚甲醛中固定过夜。脱水、石蜡包埋。在每一标本损伤区中心及距损伤中心头侧 2.5mm 处(边缘区)连续切片, 片厚 3μm, 待检。各时间点随机取边缘区 1 张行 HE 染色, 光镜下观察组织和细胞形态的变化特点。

免疫组化采用 sABC 法。各时间点随机取边缘区 1 张切片脱蜡至水, 微波修复抗原, 滴加封闭液, 抗 bcl-2 工作液, 室温 37℃过夜, PBS 冲洗, DAB 显色, 苏木精轻度对比染色, 脱水、封固, 具体步骤参照试剂盒说明进行。非实验相关病理专业人员镜下观察, 每张片在高倍视野下(400×)随机选 8 个不同的视野(4 个白质区, 4 个灰质区), 拍片并计算各个视野的阳性细胞数(阳性细胞的胞核和胞浆呈棕黄色), 然后算出平均值。

1.5 凋亡细胞检测

应用 TUNEL 法检测凋亡细胞, 具体操作参见试剂盒。每组 24h、3d、7d 三个时间点每只大鼠边缘区处随机抽 1 张切片进行 TUNEL 原位末端标记法检测, 同 1.4 免疫组化计算阳性细胞数方法计算平均细胞凋亡数。

1.6 统计学处理

应用 SPSS 13.0 统计软件处理数据, 数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组数据间的比较用 *t* 检验, *P*<0.05 为有显著性差异。

2 结果

大鼠实验期间内非正常死亡 8 只, 对照组和

实验组各 4 只。对照组未见感染者,而实验组 3~14d 出现 3 只切口化脓性感染。14d 时大鼠后肢瘫痪均有一定程度改善。

^{125}I -cAMP 放射免疫测定示实验组给药 3h 后 cAMP 含量明显高于对照组和空白组 ($P<0.01$),提高程度超过对照组 50%,6h 时也依然高于对照组;对照组比空白组平均值降低,差异均有统计学意义 ($P<0.05$) (表 1)。

SCI 后 6h,空白组脊髓 HE 染色光镜下清晰显示脊髓组织的正常结构(图 1,后插页 II);对照组脊髓中出现明显的多灶性出血,结构破坏,大量神经元缺失;24h 后损伤区出现明显的坏死表现,如空泡变性、核消失、轴突肿胀等;3d 时损伤加重,伴有炎症细胞浸润直到 14d;7d 后,损伤区扩展并出现空洞(图 2,3,后插页 II);至 14d,一个大的中心空洞形成,损伤区淤血斑减轻,胶质细胞增生。实验组镜下改变与对照组相似,但炎症细胞浸润和局部胶质细胞增生不如对照组明显(图 4,后插页 II)。

bcl-2 免疫组化染色结果见表 2。空白组未见阳性表达(图 5,后插页 II),对照组和实验组脊髓损伤后 6h,bcl-2 蛋白仅有少量神经元表达,24h 至 7d 表达处于高峰(图 6,7,后插页 II),而后下降,阳性细胞主要是神经元,14d 时可见少量表达;实验组损伤的边缘区 3 至 14d 较对照组明显增多,胶质细胞阳性率增加。

细胞凋亡 TUNEL 检测结果见表 3。空白组清晰显示出脊髓组织的正常结构,神经元和胶质细胞均蓝染,几乎见不到棕黄色的阳性细胞(图 8,后插页 II)。对照组和实验组 TUNEL 阳性细胞在 24h~7d 均有表达,多数为胶质细胞,实验组 3d 和 7d 时细胞凋亡数较对照组减少(图 9、10,后插页 II),差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

3 讨论

急性脊髓损伤包括原发性损伤和继发性损伤,细胞凋亡是继发性损伤的重要组成部分,脊髓损伤后几个小时至几周可检测出细胞凋亡。本实验发现伤后 24h 内,凋亡细胞主要位于损伤中心区,但并未见明显的神经元凋亡,提示早期神经元的丢失可能主要是坏死造成的,与凋亡关系不大,损伤中心逐渐形成空洞。3~7d 边缘区 TUNEL 阳性细胞增多,且以胶质细胞为主,这与 Liu 等^[9]研

表 1 各组大鼠脊髓 ^{125}I -cAMP 放射免疫测定结果 ($n=4$)

脊髓 cAMP 含量 (pmol/ml)	
空白组	9.12±1.05 ^①
对照组	7.32±1.01
实验组 (给药 3h)	11.62±1.73 ^②
实验组 (给药 6h)	9.77±1.37 ^①

注:①与对照组比较 $P<0.05$ ②与对照组比较 $P<0.01$

表 2 大鼠脊髓损伤后不同时间点脊髓 bcl-2 阳性细胞数 (个, $\bar{x}\pm s$, $n=5$)

	6h	24h	3d	7d	14d
对照组边缘区	5.8±0.8	23.7±6.6	32.2±4.3	24.0±3.6	5.9±0.9
实验组边缘区	4.5±1.2	25.4±3.1	40.9±6.0 ^①	30.3±4.9 ^①	7.8±1.3 ^①

注:与对照组比较① $P<0.05$

表 3 大鼠脊髓损伤后不同时间点脊髓 TUNEL 阳性细胞数 (个, $\bar{x}\pm s$, $n=5$)

	24h	3d	7d
对照组边缘区	29.1±5.5	28.7±4.1	34.6±6.8
实验组边缘区	26.9±4.8	22.7±3.8 ^①	25.9±2.4 ^①

注:与对照组比较① $P<0.05$

究发现胶质细胞凋亡在 SCI 后的继发病理生理过程中起主要作用的论点基本一致。脊髓损伤中延迟凋亡的细胞大多为少突胶质细胞,原因尚不完全清楚,可能与轴突 wallerian 变性而失去营养或不良周围环境(如炎症介质)等有关^[4,5]。因此改善细胞微环境,阻止细胞启动自杀程序成为重要的问题。

Rolipram 在中枢神经系统特异性抑制磷酸二酯酶 IV (PDE4),磷酸二酯酶 IV 能导致 cAMP 降解为 5'AMP,它的失活可提高细胞内 cAMP 的含量。本实验通过放免测定证实 Rolipram 可以有效提高脊髓组织中 cAMP 的含量,给药 3h 超过对照组 40%。Damien 等研究表明脊髓损伤后 1d, cAMP 在脊髓组织下降 64.3%,脑干下降 68.1%,相应感觉运动皮质下降 69.7%,这种情况至少持续两周,而在与损伤无联系的脑组织没有发现 cAMP 的改变^[1],这意味着 cAMP 水平的降低与轴突损伤有关。本实验中也发现对照组损伤后脊髓组织 cAMP 平均水平下降,原因并不清楚,但并未达到下降 64.3%的程度,也可能与样本量相对少有关。这种重要的细胞内信号分子明显下降,必定

会引起细胞的一系列生物学变化,可能是 SCI 后细胞凋亡、脊髓萎缩、再生障碍等表现的一部分原因^[6]。

2004 年 Damien、Elena 等使用 Rolipram 合并细胞移植治疗大鼠脊髓损伤,明显促进了轴突再生,再髓鞘化和运动功能^[1,2],我们在前期体外实验中也已证实 cAMP 可以提高神经轴突再生的能力^[7],但实验均未考虑 Rolipram 可能存在的保护作用。本实验证实了 Rolipram 对大鼠脊髓损伤具有一定的保护作用,实验组损伤区边缘 3~7d 凋亡细胞较对照组明显减少,其机制可能与下列因素有关。

(1)调控 bcl-2 等凋亡相关基因的表达,减少细胞凋亡。

神经细胞的凋亡需要一些相关基因的激活,因此控制这些凋亡基因表达的转录信号很重要。对于神经元,第二信使 cAMP 起着调节细胞存活的作用。体外实验已证实许多可穿透细胞膜的 cAMP 类似物,如 cpt-cAMP,在其他营养因子缺乏的情况下可以保持神经元的存活^[8]。cAMP 的主要效应物是蛋白激酶 A(PKA),细胞内 cAMP 的提高使无活性的 PKA 复合物解离,释放催化亚基,后者不仅可以催化细胞质内的蛋白质底物磷酸化,还可通过核膜在核内调节转录因子。PKA 在核内的一个重要的目标底物是 cAMP 应答元件结合蛋白(CREB),通过在 Ser133 位的磷酸化激活转录。CREB 是已被研究的与神经元存活、凋亡和变性相关的转录因子^[9],磷酸化的 CREB 调节 c-fos, jun-B, bcl-2, BDNF, NGF 等多种蛋白的基因转录,从而抑制神经细胞凋亡,促进细胞分化、再生,而应用 CREB 的阻遏物可促进神经细胞的凋亡^[9]。CREB 促转录的一个目标是 bcl-2,它是调节细胞程序性死亡的一个重要的保护性基因^[10],具体机制不详,可能通过调节核膜及线粒体膜稳定性来起作用,能够阻止交感神经元在缺失神经营养因子情况下的凋亡,阻止 bcl-2 的表达会增加体外培养神经元的死亡。本实验发现,脊髓损伤后早期一周内 bcl-2 蛋白有一定表达,但相对弱且主要表达在神经元,可能正是由于其保护作用使得神经元凋亡较少。实验组应用 Rolipram 使 cAMP 水平增高,增强了 bcl-2 的表达,与少突胶质细胞的延迟凋亡的减少相一致,提示 cAMP-CREB-bcl-2 抗凋亡通路可能是 Rolipram 保护作

用机制之一。对于 cAMP 可能存在的其他凋亡基因调控作用,有学者在缺乏 NGF 诱导的 PC12 神经元样细胞凋亡的研究中,提出 cAMP 可能通过激活 MAPK 家族中的 ERK 和抑制 JNK-p38 而产生抗凋亡和促进神经元存活的作用^[11]。另外,还有学者通过 PKA 磷酸化神经细胞的钙离子通道阻止钙离子内流和钙超载或磷酸化细胞质内的凋亡调节物 BAD,使其功能失活抑制凋亡等。

(2) Rolipram 所具有的抗炎作用也可能发挥保护作用。

脊髓损伤后多种因素都可诱导神经细胞凋亡,炎症反应是其中之一。实验^[12]已证实 Rolipram 具有免疫抑制和抗炎效果。除中枢神经系统, PDE-4 主要分布于各类炎性细胞,如巨噬细胞、中性粒细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞和肥大细胞等。PDE-4 抑制剂能增加这些细胞内 cAMP 水平,导致广泛的抗炎症效应,这些包括①抑制细胞因子如 IL-2、IL-4 和 IL-5 的产生和释放;②抑制炎症介质如 TNF- α 、TNF- γ 和 IL-8 的产生和释放;③抑制反应氧类物的释放;④抑制炎症细胞的迁移和浸润等。本实验发现实验组中出现多只大鼠切口感染,而对照组未发现感染者,同时实验组 HE 染色中炎性细胞的浸润相对较轻,这些可能都与抗炎作用和免疫抑制有关。

(3) 提高 cAMP 水平可能增强神经内在生长能力和加强营养因子的作用。许多学者^[11,6,13]通过实验证实 cAMP 具有促进多种神经元存活的功能,如:预先给予一些神经生长因子激活 Trk 受体或直接给 dpcAMP 等方法提高神经元内 cAMP 到一定水平可以克服 MAG 的抑制作用;BDNF 对 RGC 细胞的保护作用依赖于细胞内 cAMP;BDNF、GDNF 对神经元轴突的再生作用可能也依赖于 cAMP 介导的神经营养因子促进神经生长的作用^[13]。通过神经元内在生长能力的提高,增强轴浆运输,减缓轴突损伤的扩散,增强对少突胶质细胞的存活信号可能也是减少少突胶质细胞凋亡的原因之一。

多种复杂因素引起的继发损伤是临床治疗干预主要目标之一,大剂量甲强龙能够一定程度的保护脊髓组织。然而大剂量甲强龙存在一些严重的副作用,不能长时间应用,所以寻找新药物,联合应用,增加效果,减少单独应用的副作用是目前临床迫切需要解决的问题。本实验所采用的

Rolipram最初是以抗抑郁药物被用于临床实验。但具有引起厌食、恶心、呕吐的副作用。如果用于SCI的治疗,同时具有保护脊髓和促进中枢神经再生的功能,可能取得一些意想不到的效果。与抑郁症的长期治疗不同,因为应用时间相对较短,患者对副作用是可以忍受的。而且它可以迅速地通过血脑屏障,因此可以经外周给药以避免对损伤局部的干扰,减少局部感染、副损伤等并发症。当然临床应用之前尚需大量实验去进一步探索,这为治疗脊髓损伤提供了新的思路。

4 参考文献

1. Damien D, Francisco C, Alexander E, et al. cAMP and schwann cell promote axonal growth and functional recovery after spinal cord injury[J]. Nature medicine, 2004, 10(6): 610-616.
2. Elena N, Lille T, Hai N, et al. The phosphodiesterase inhibitor rolipram delivered after a spinal cord lesion promotes axonal regeneration and functional recovery[J]. PNAS, 2004, 101(23): 8786-8790.
3. Liu XZ, Xu XM, Hu R, et al. Neuronal and glial apoptosis after traumatic spinal cord injury[J]. J Neurosci, 1997, 17(4): 5395-5406.
4. Barres BA, Jacobson MD, Schmid R. Does oligodendrocyte survival depend on axons[J]? Curr Biol, 1993, 3(8): 489-497.
5. Dusart I, Schwab ME. Secondary cell death and the inflammatory reaction after dorsal hemisection of the rat spinal cord[J]. Eur J Neurosci, 1994, 6(5): 712-724.
6. Cai D, Qiu J, Cao Z, et al. Neuronal cyclic AMP controls the developmental loss in ability of axons to regenerate [J]. J Neurosci, 2001, 21(13): 4731-4739.
7. 祁全, 毕郑钢, 高宏雷, 等. 洛利普兰克服髓磷脂轴突生长抑制作用的研究[J]. 中华显微外科杂志, 2005, 28(6): 248-250.
8. Murrell RD, Tolkovsky AM. Role of voltage-gated Ca^{2+} channels and intracellular Ca^{2+} in rat sympathetic neuron survival and function promoted by high K^{+} and cyclic AMP in the presence or absence of NGF [J]. Eur J Neurosci, 1993, 5(10): 1261-1272.
9. Jaworski J, Mioduszewska B, Sánchez-Capelo A, et al. Inducible cAMP early repressor, an endogenous antagonist of cAMP responsive element-binding protein, evokes neuronal apoptosis in vitro[J]. J Neurosci, 2003, 23(11): 4519-4526.
10. 郭树章, 蒋涛, 任先军. 神经营养-3 对大鼠急性脊髓损伤后 Bcl-2 和 Bax 表达的影响[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2007, 17(6): 454-457.
11. Zentrich E, Han SY, Pessoa-Brandao L, et al. Collaboration of JNKs and ERKs in nerve growth factor regulation of the neurofilament light chain promoter in PC12 cells [J]. J Biol Chem, 2002, 277(6): 4110-4118.
12. 唐朝克, 王佐, 易光辉, 等. Rolipram 对 THP-1 巨噬细胞源性泡沫细胞胆固醇流出和 ABCA1 表达的影响[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(10): 1177-1182.
13. Neumann S, Bradke F, Tessier-Lavigne M, et al. Regeneration of sensory axons within the injured spinal cord induced by intraganglionic cAMP elevation[J]. Neuron, 2002, 34(6): 885-893.

(收稿日期: 2008-07-28 修回日期: 2008-09-11)

(英文编审 郭万首)

(本文编辑 彭向峰)

消息

第四届全国脊柱外科学术论坛暨国际脊柱外科学术会议通知

由上海长征医院骨科、《脊柱外科杂志》编辑部主办的“第四届全国脊柱外科学术论坛暨国际脊柱外科学术会议”定于 2009 年 3 月 25-29 日在上海举行。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、肿瘤、矫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。

会议征文内容: (1) 脊柱创伤近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) 脊柱肿瘤近年国内外研究现状、疗效分析及存在问题; (4) 脊柱侧弯近年国内外研究进展、诊治现状、问题分析; (5) 微创脊柱外科的概念、范畴与应用。

要求: (1) 凡未公开发表的 5000 字以内的论文, 提供 800 字以内摘要, 按结构式摘要要求书写(应包括题目、目的、方法、结果及结论)并注明作者姓名、工作单位、通讯单位、邮政编码。以 E-mail 方式投稿。(2) 截稿日期: 2008 年 12 月 31 日。(3) 投稿地址: 上海市凤阳路 415 号长征医院骨科, 邮编 200003。(4) 联系人: 许丽英 (021) 63610109 转 73324, 13651937939; 张丽 (021) 63610109-8288, 63720099。(5) E-mail: CZ-GK@163.com。(6) 传真: (021) 63720099。

会议日程: (1) 2009 年 3 月 25 日(星期三)——培训班全天报到; (2) 2009 年 3 月 26 日——培训班授课及会议报到; (3) 2009 年 3 月 27-29 日——第四届全国脊柱外科学术论坛。会议地点: 上海光大会展中心国际大酒店上海徐汇区漕宝路 66 号。会议注册: 注册费 900 元/人; 食宿大会统一安排, 费用自理。