

基础研究

先天性脊柱侧凸发状分裂相关增强子-7
基因外显子突变的筛查

丁 旗, 邱旭升, 孙 旭, 季明亮, 吕 峰, 江 华, 张 兴, 邱 勇

(南京大学医学院附属鼓楼医院脊柱外科 210008 南京市)

【摘要】 目的: 探讨汉族人群中发状分裂相关增强子-7 (hairy-and-enhancer-of-split-7, HES7) 基因外显子(exon)突变与先天性脊柱侧凸(congenital scoliosis, CS)发病的关系。**方法:** 2009 年 6 月~2010 年 12 月在我院行手术治疗且有完整影像学资料的汉族散发非综合征型 CS 患者 60 例(病例组), 其中男 23 例, 女 37 例, 年龄 12.9 ± 4.4 岁; 对照组为 80 例正常汉族人, 其中男 32 例, 女 48 例, 年龄 13.7 ± 3.2 岁。从每例受检者外周血中提取基因组 DNA, 设计引物扩增 HES7 基因 exon(共 4 个: exon 1~4)序列, 目的产物纯化后 DNA 自动测序, 应用 DNASTar 软件的 MegAlign 将两组测序结果进行对比, 并与美国 NCBI 基因库所公布的 HES7 基因 exon 序列进行比对分析, 比较两组 exon 突变情况。**结果:** 病例组和对照组 HES7 基因 exon 1 和 exon 4 序列均与基因库 HES7 基因 exon 序列一致; exon 2 第 81 位点在两组中均存在 G/A 多态性, 但基因多态性分布频率无显著性差异 ($P=0.727$); exon 3 第 37 位点在两组中均存在 T/C 多态性, 但基因多态性分布频率也无显著性差异 ($P=1.000$)。**结论:** 中国汉族散发非综合征型 CS 患者 HES7 基因 exon 无突变, 在中国汉族人群中 HES7 基因 exon 突变与散发非综合征型 CS 的发病可能无关。

【关键词】 先天性脊柱侧凸; HES7 基因; 外显子; 突变分析

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2012.03.12

中图分类号: R682.1, Q786 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2012)-03-0252-06

Mutation analysis of hairy-and-enhancer-of-split-7 gene exons in patients with congenital scoliosis/
DING Qi, QIU Xusheng, SUN Xu, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2012, 22(3): 252-
257

【Abstract】 Objectives: To identify the relation between the mutation of hairy-and-enhancer-of-split-7 (HES7) gene exons and the pathogenesis of congenital scoliosis (CS) in Chinese Han population. **Methods:** From June 2009 to December 2010, sixty sporadic and non-syndromic CS patients (including 23 males and 37 females, averagely aged 12.9 ± 4.4 years) were admitted in our hospital. All patients were Chinese Han population and underwent surgery, and 80 normal controls(including 32 males and 48 females, averagely aged 13.7 ± 3.2 years) with the same Han population were regarded as control group. Genomic DNA was extracted from peripheral blood, and the sequences of four HES7 exons (exon 1-4) were amplified by self-designed primers, then the target PCR product was purified. Sequencing analysis of purification products was applied, and the sequencing results of two groups were compared by MegAlign of DNASTar software, and the results were also compared with sequences published by NCBI to detect mutation of four exons of HES7 gene in both groups. **Results:** The sequences of exon 1 and exon 4 in CS group and control group were in accordance with that of the gene bank. G/A polymorphism was found in the 81st site of exon 2 in both CS group and control group, and the difference of distribution frequency of polymorphism between two groups showed no significance($P=0.727$). Moreover, T/C polymorphism was found in the 37th site of exon 3 in both CS group and control group, and the difference of distribution frequency of this polymorphism between two groups also showed no significance($P=1.000$). **Conclusions:** No exon mutation of HES7 gene was found in sporadic and

基金项目: 教育部中央高校基本科研业务费专项基金项目(编号: 021414330009); 国家自然科学基金项目(编号: 81171767)

第一作者简介: 男(1987-), 医学硕士研究生在读, 研究方向: 脊柱外科

电话: (025)83304616-12102 E-mail: dingqi604@163.com

通讯作者: 邱勇 E-mail: scoliosis2002@sina.com

non-syndromic CS in Chinese Han population. The exon mutation of HES7 gene may not be involved in the pathogenesis of sporadic and non-syndromic CS in Chinese Han population.

【Key words】 Congenital scoliosis; Hairy-and-enhancer-of-split-7 gene; Exon; Mutation analysis

【Author's address】 Department of Spine Surgery, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing, 210008, China

先天性脊柱侧凸 (congenital scoliosis, CS) 是胚胎期中轴骨发育障碍引起的脊柱畸形^[1], 新生儿中 CS 发生率为 0.5%~1%^[2]。体节 (somite) 是中轴骨发育的前体, 体节发育过程受影响可以导致中轴骨发育畸形, 表现为椎体形成障碍或分节不良^[3]。Erol 等^[3]认为脊椎畸形可因胚胎期体节发育相关基因突变引起, 也可因妊娠期环境因素或这两个因素共同作用所致。目前有关 CS 的病因学研究^[4,5]多关注伴有椎体发育畸形的各种综合征患者, 如脊椎肋骨发育不全综合征 (spondylocostal dysostosis, SCD)、Klippel-Feil 综合征等。但对于散发非综合征型 CS 的确切病因尚不清楚^[6]。发状分裂相关增强子-7 (hairy-and-enhancer-of-split-7, HES7) 基因是调控体节形成的 Notch 信号通路的关键基因, 参与调控脊椎的正常发育^[4,7]。无论动物实验^[8]还是对伴椎体分节障碍的 SCD 患者的基因测序研究^[9]均表明 HES7 基因突变与椎体发育畸形密切相关。鉴于以上发现, 我们推测 HES7 基因突变可能与散发的、非综合征型 CS 的发病存在相关性。为此, 我们对 CS 患者和健康人群进行 HES7 基因外显子 (exon) 突变筛查, 探讨 HES7 基因 exon 突变与 CS 发病可能存在的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 病例组 所有病例均选自 2009 年 6 月~2010 年 12 月在我院行手术治疗的 CS 患者, 均为汉族, 无家族史。术前均根据全脊柱 X 线片及 CT 三维重建确诊并对其不同临床表型 (椎体形成障碍、分节不良和混合型^[9]) 进行分类; 均行全脊髓 MRI 检查明确是否伴有脊髓畸形^[10], 如脊髓空洞、脊髓拴系等。排除伴有多系统发育畸形的综合征患者 (如 Klippel-Feil 综合征、SCD、Jarcho-Levin 综合征等)。共 60 例 CS 患者, 年龄 2~23 岁, 平均 12.9±4.4 岁, 其中男性 23 例, 女性 37 例。椎体分节不良 13 例, 形成障碍 26 例, 混合型 21 例。伴有脊髓空洞者 5 例, 脊髓拴系 4 例, 脊髓纵裂 2 例。

1.1.2 正常对照组 以 80 例进行健康体检的汉族正常青少年为对照组, 均无亲缘关系, 其中男性 32 例, 女性 48 例, 年龄 10~15 岁, 平均 13.7±3.2 岁。均经询问病史, 并由一名脊柱外科医师行前屈试验及神经系统体检, 排除背部可疑不等高或神经系统体检异常 (如腹壁反射不对称或消失, 两侧躯干感觉不对称等) 者。

所有研究对象或其父母均签署知情同意书, 并获得南京大学医学院附属南京鼓楼医院伦理委员会批准。

1.2 HES7 基因 exon 突变的检测

1.2.1 基因组 DNA 的提取 每例受检者抽取外周静脉血 3ml (EDTA 抗凝), 离心去除血浆, 并采用“树脂型™”基因组 DNA 提取试剂盒 (上海赛百盛基因技术有限公司) 提取基因组 DNA, 提取后将 DNA 保存于-80℃冰箱, 备用。

1.2.2 HES7 基因外显子序列扩增 应用常规 PCR 方法对 HES7 基因的 4 个 exon (exon 1~4) 片段分别进行扩增: 根据 Gene-bank 中人类 HES7 基因的外显子序列, 应用 Primer 3.0 软件对 exon 4 进行引物设计, 另外 3 个 exon 引物采用文献^[11]中的序列, 具体引物序列及扩增片段大小见表 1。引物均由上海英骏生物技术有限公司合成。PCR 反应采用 50μl 反应体系, 具体包括: 基因组 DNA 2μl, Taq DNA 聚合酶 (日本 Toyobo 公司) 1μl (1.0U/μl), 2×PCR buffer 25μl (含 MgCl₂), 正、反向引物 (10pmol/μl) 各 1.5μl, dNTPs (2.0μmol/L) 10μl, 双蒸水 9μl。PCR 反应条件: ①94℃预变性 2min; ②98℃变性 10s; ③退火温度 (表 1) 退火 30s; ④68℃延伸 45s; ②~④35 个循环; 72℃延伸 7min。4℃保存 PCR 产物。PCR 产物经 2% 琼脂糖电泳, 在 UVP 凝胶成像仪上观察结果。

1.2.3 PCR 产物纯化与测序 采用 AxyPrep PCR 清洁试剂盒 (美国 AXYGEN 公司) 对 60 例 CS 患者及 80 例正常对照者的 PCR 产物进行纯化, 纯化后通过 DNA 自动测序仪 (ABI 3730XL 全自动 DNA 测序仪, 北京六合华大基因上海分公

表 1 HES7 基因外显子扩增所用引物序列、退火温度及产物长度

Table 1 The primer sequence, annealing temperature and product size of four exons of HES7 gene

	退火温度(℃)	正向(5'-3')引物序列	反向(5'-3')引物序列	产物长度(bp)
	Annealing temp(℃)	Forward primer sequence(5'-3')	Reverse primer sequence(5'-3')	Product size(bp)
Exon 1	58	GCAGAATCTGGATGTCGAAGGG	TTCTGGCTCCTGGAGTTCTGG	294
Exon 2	62	AGCGGAGAGGGATCGAATGG	GCCAACCAAGCTTGTGTC	340
Exon 3	62	ATTGTCGCGCGTTCTGTGGG	TTAACCTCGCCTCGGAGCAGAACC	367
Exon 4-1*	57	TTCCGTCCATCTGGCTTC	CCGTCTTGTCTGTGAGGC	536
Exon 4-2*	57	GCCGCCTCACAGACAAG	CCATTCCCACTCTAGTACCCGTA	773

注:*Exon 4 片段较大,用 2 对引物(Exon 4-1,Exon 4-2)进行分段扩增

Mark;* Due to the large size of Exon 4 sequence,two pairs of primers(Exon 4-1,Exon 4-2) were used for the amplification.

司)测序。应用 Chromas 软件分析测序图谱及 DNASTar 软件的 MegAlign 将两组测序结果进行对比,并与美国 NCBI 基因库所公布的 HES7 基因 exon 序列进行比对分析。对存在基因变异的序列进行反向测序加以验证。

1.3 统计分析

用 SPSS 16.0 统计软件进行统计学分析。两组间基因多态性的分布频率比较用卡方检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

对研究对象 HES7 基因 exon 区域进行 PCR 扩增均成功得到目的 PCR 产物,经 2% 琼脂糖电泳对片段进行鉴定,片段长度均与预期相符合,条带均清晰(图 1)。

exon 1 与 exon 4 的序列在 CS 组和正常对照组均与基因库所公布的 HES7 基因外显子序列一致。exon 2 第 81 位点存在 G/A 多态性,其中 CS 组 37 例碱基为 A,23 例碱基为 G(图 2);正常对照组中 47 例碱基为 A,33 例碱基为 G;二组的多态性分布频率无显著性差异($P=0.727$),且编码氨基酸均为谷氨酸(GAG/GAA)。exon 3 第 37 位点存在 T/C 多态性,其中 CS 组 3 例碱基为 C,57 例碱基为 T(图 3);正常对照组 5 例碱基为 C,75 例碱基为 T;二组的多态性分布频率无显著性差异($P=1.000$),且编码氨基酸均为亮氨酸(TTG/CTG)。

3 讨论

CS 是起源于胚胎发育期中轴骨发育缺陷所

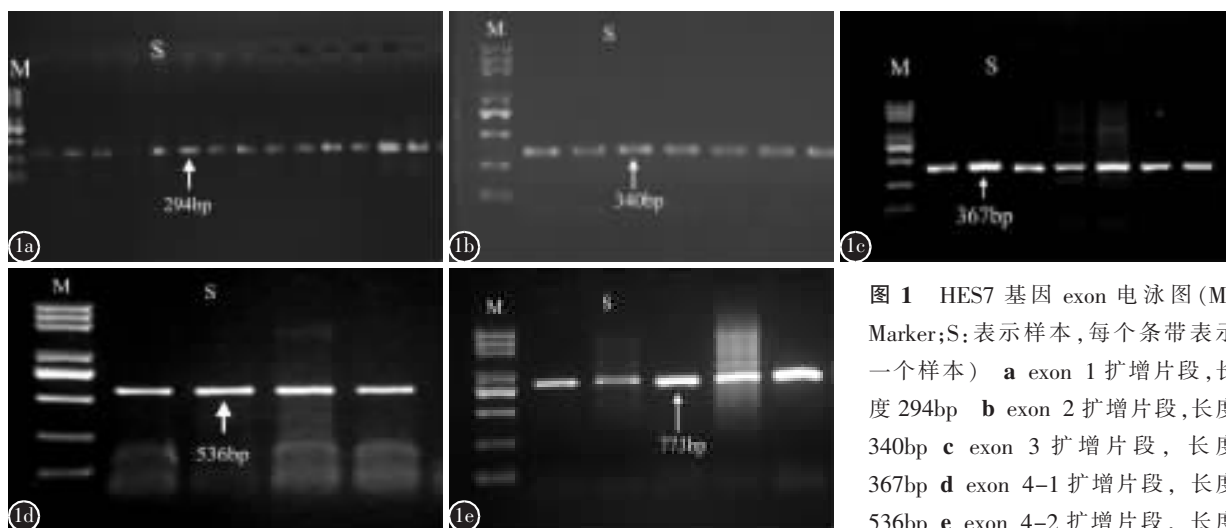


图 1 HES7 基因 exon 电泳图(M: Marker;S: 表示样本,每个条带表示一个样本) a exon 1 扩增片段,长度 294bp b exon 2 扩增片段,长度 340bp c exon 3 扩增片段,长度 367bp d exon 4-1 扩增片段,长度 536bp e exon 4-2 扩增片段,长度 773bp

Figure 1 The electrophoretograms of HES7 gene exons(M: Marker, S: Sample, each strap represent one sample) a The amplification fragment of exon 1, the size was 294bp b The amplification fragment of exon 2, the size was 340bp c The amplification fragment of exon 3, the size was 367bp d The amplification fragment of exon 4-1, the size was 536bp e The amplification fragment of exon 4-2, the size was 773bp

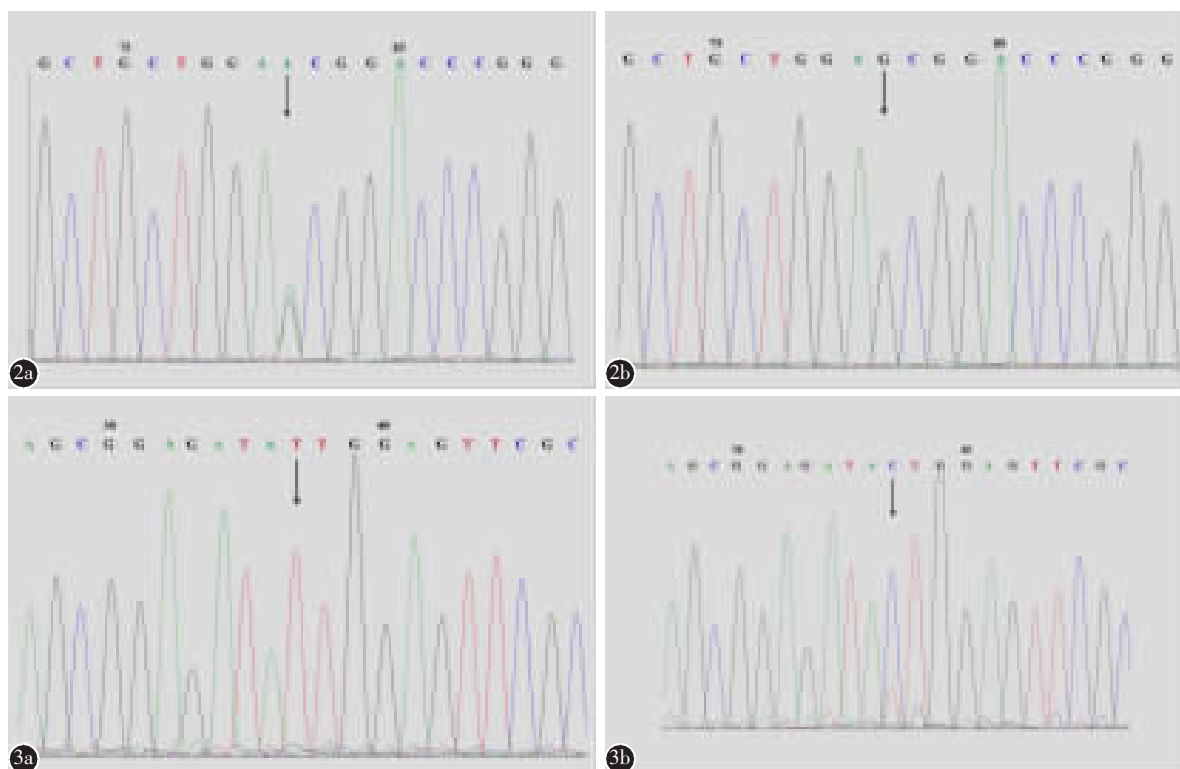


图 2 exon 2 测序结果 **a** 患者男, 1.8 岁, L3 半椎体, exon 2 第 81 位点碱基为 A, 编码氨基酸为谷氨酸(GAA) **b** 患者女, 2.2 岁, T9、L2 半椎体, exon 2 第 81 位点碱基为 G, 编码氨基酸为谷氨酸(GAG) **图 3** exon 3 测序结果 **a** 患者男, 3.2 岁, L2~L4 蝴蝶椎伴椎体分节不良, exon 3 第 37 位点碱基为 T, 编码氨基酸为亮氨酸(TTG) **b** 患者女, 1.8 岁, T9、T12 半椎体, exon 3 第 37 位点碱基为 C, 编码氨基酸也为亮氨酸(CTG)

Figure 2 The sequencing results of exon 2 **a** A 1.8-year-old boy patient with hemivertebra at L3, the base of the 81st site of exon 2 was A, and the encoding amino acid was glutamic acid (GAA) **b** A 2.2-year-old girl patient with hemivertebrae at T9, L2, the base of the 81st site of exon 2 was G, and the encoding amino acid was glutamic acid (GAG) **Figure 3** The sequencing results of exon 3 **a** A 3.2-year-old boy patient with butterfly vertebrae and fused segments at L2-L4, the base of the 37st site of exon 3 was T, and the encoding amino acid was leucine (TTG) **b** A 1.8-year-old girl patient with hemivertebrae at T9, T12, the base of the 37st site of exon 3 was C, and the encoding amino acid was leucine(CTG).

引起的脊椎畸形^[1], 常伴有肋骨、脊髓、泌尿生殖系统、胃肠道或心血管系统畸形^[12]。在胚胎发育期, 中轴骨形成过程中的暂时分节组织称为体节, 为中轴骨发育的前体。周期性的体节形成和协调性的椎体分节过程由 Notch 信号通路的分节时钟(segmentation clock)调控^[4,7]。调控体节形成的基因突变可直接导致体节形成的中断或紊乱, 继而引起脊椎发育畸形, 包括不均匀分节(半椎体, 楔形椎)、融合分节(阻滞椎, 骨桥椎)和中线融合(蝴蝶椎)^[12]。

研究表明, HES7 基因通过 Notch 信号通路调控体节形成从而参与调控脊椎的正常发育^[4,7]。另外, HES7 基因还通过调控 LFNG(Notch 信号通路

核心基因) 等多个效应基因从而构成复杂的分节时钟, 精密地调控体节的分节过程^[13]。小鼠的 HES7 基因位于 13 号染色体, Bessho 等^[8]将小鼠 HES7 基因敲除后, 小鼠表现为体节分节紊乱, 前后极断裂, 从而导致严重的脊椎和肋骨畸形。人类 HES7 基因位于 17 号染色体 p13.1。SCD 是一种脊椎严重分节障碍伴有肋骨严重畸形或数量缺如的综合征^[4]。Dunwoodie 等^[4]通过对一个 SCD 家族的患者进行候选基因测序, 发现 HES7 基因突变可以导致 SCD, DNA 测序结果显示 HES7 基因外显子(Exon2)存在纯合子错义突变(c.73C>T), 导致色氨酸(TGG)替代精氨酸(CGG)。原所茂等^[14]通过关联分析研究认为中国汉族人群 HES7 基因

rs3027279 和 rs1442849 两个位点多态性可能与 CS 的易感性存在一定关联。因此,有理由推测 HES7 基因可能与 CS 的发病密切相关。

目前,国外较多研究关注伴有脊椎发育畸形的各种综合征患者,对此类疾病的家系病例采用连锁分析方法寻找致病基因^[4-5],而尚缺乏对散发非综合征型 CS 的基因突变相关研究报道,且对于非综合征型 CS 的确切病因尚不清楚。对于散发非综合征型 CS,应用传统的连锁分析方法定位导致椎体畸形的特定染色体区域可能性很小。exon 组测序是一种新型的基因组分析技术,与常用的人类基因组测序相比,exon 测序在检测基因变异方面,无论对于普通变异还是罕见变异,均表现出高灵敏度。通过这种测序,只需针对 exon 区域的 DNA 序列即可,通常能够发现位于编码区的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 以及基因序列的插入或缺失等变异^[15]。有学者^[4,16]已通过该技术寻找到某些疾病的相关致病基因。因此,本研究将 HES7 基因作为中国汉族人群非综合征型 CS 发病的候选基因,通过 exon 测序的方法进行突变的筛查分析,以探讨 HES7 基因 exon 突变与 CS 发病的关系。

人类 HES7 基因共有 4 个 exon,本测序结果显示 exon 1 与 exon 4 序列在 CS 组患者及正常对照组个体均与基因库序列一致。而 exon 2 第 81 位点存在 G/A 两种等位基因,但编码氨基酸均为谷氨酸(GAG/GAA),由于该等位基因频率远大于 1%,且不会引起编码氨基酸变化,CS 组与正常对照组中均存在 G/A 两种等位基因,因此该位点仅为 SNP,而非同义突变。目前,通过 PubMed 数据库检索并无该 SNP 位点的报道,所以可以认定此为新发现的 SNP 位点。另外,exon 3 第 37 位点存在 T/C 两种等位基因,但编码氨基酸均为亮氨酸(TTG/CTG),同理,该位点也为 SNP 位点,通过检索 PubMed 数据库我们发现此位点与 rs1348325 位点一致,进一步证实其为非基因突变。本研究结果显示中国汉族人群非综合征型 CS 患者 HES7 基因 exon 无突变的存在。Gucev 等^[17]对一个马其顿家系中的 SCD 患者 HES7 基因 exon 进行测序,也发现该基因 exon 无突变发生,并认为可能与 Notch 信号通路的其他基因异常有关。原所茂等^[14]研究认为 HES7 基因 rs3027279 和 rs1442849 两个位点多态性可能与 CS 的易感性

存在一定关联,该研究的两个 SNP 位点均不在 exon 区域内。另外,结合本研究 exon 测序结果,HES7 基因是否存在内含子或调控区域内某些突变/多态性与 CS 的发病有关,或者该基因的邻近基因存在突变/多态性与 CS 的发病相关尚不清楚。因此,下一步应该对 HES7 基因内含子、调控区域或该基因所在通路的其他基因进行研究。

虽然本研究尚未发现中国汉族人群非综合征型 CS 患者存在 HES7 基因 exon 的突变,由于 HES7 基因仅为调控 Notch 信号通路的基因之一,该通路是否存在其他基因的突变,还需要进一步研究证实。此外,由于本研究未发现 HES7 基因 exon 突变的存在,所以并未对 CS 不同临床表型与该基因的相关性进行分类研究,但我们认为,在以后的研究中,如发现其他相关基因的突变,根据 CS 的不同临床表型进行分类探讨十分有意义。

4 参考文献

1. Pourquie O, Kusumi K. When body segmentation goes wrong [J]. Clin Genet, 2001, 60(6): 409-416.
2. Wynne Davies R. Congenital vertebral anomalies: etiology and relationship to spina-bifida cystica [J]. J Med Genet, 1975, 12 (3): 280-288.
3. Erol B, Tracy MR, Dormans JP, et al. Congenital scoliosis and vertebral malformations: characterization of segmental defects for genetic analysis [J]. J Pediatr Orthopaed, 2004, 24(6): 674-682.
4. Dunwoodie SL, Sparrow DB, Guillen-Navarro E, et al. Mutation of Hairy-And-Enhancer-Of-Split-7 in humans causes spondylocostal dysostosis [J]. Hum Mol Genet, 2008, 17(23): 3761-3766.
5. McGaughan JM, Oates A, Donnai D, et al. Mutations in PAX1 may be associated with Klippel-Feil syndrome [J]. Eur J Hum Genet, 2003, 11(6): 468-474.
6. Hensinger RN. Congenital scoliosis: etiology and associations [J]. Spine, 2009, 34(17): 1745-1750.
7. Brand-Saberi B, Christ B. Evolution and development of distinct cell lineages derived from somites [J]. Curr Top Dev Biol, 2000, 48: 1-42.
8. Bessho Y, Sakata R, Komatsu S, et al. Dynamic expression and essential functions of HES7 in somite segmentation [J]. Gene Dev, 2001, 15(20): 2642-2647.
9. 王亭, 沈建雄, 邱贵兴. 先天性脊柱畸形的诊治策略 [J]. 中华外科杂志, 2004, 42(21): 1340-1342.
10. 马兆龙, 邱勇, 王斌, 等. 先天性脊柱侧凸患者中的脊髓畸形和脊椎畸形 [J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2007, 17(8): 588-592.
11. Cornier AS, Staehling-Hampton K, Delventhal KM, et al. Mutations in the MESP2 gene cause spondylothoracic dysos-

- tos/Jarcho-Levin syndrome[J]. Am J Hum Genet, 2008, 82 (6): 1334-1341.
12. Giampietro PF, Blank RD, Raggio CL, et al. Congenital and idiopathic scoliosis: clinical and genetic aspects[J]. Clin Med Res, 2003, 1(2): 125-136.
13. McGrew MJ, Pourquie O. Somitogenesis: segmenting a vertebrate[J]. Curr Opin Genet Dev, 1998, 8(4): 487-493.
14. 原所茂, 吴志宏, 魏斌, 等. HES7 基因多态性与先天性脊柱侧凸的关联分析[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2009, 19(3): 222-226.
15. Ng SB, Buckingham KJ, Lee C, et al. Exome sequencing identifies the cause of a mendelian disorder [J]. Nat Genet, 2010, 42(1): 30-41.
16. Ng SB, Bigham AW, Buckingham KJ, et al. Exome sequencing identifies MLL2 mutations as a cause of Kabuki syndrome[J]. Nat Genet, 2010, 42(9): 785-790.
17. Gucev ZS, Tasic V, Pop-Jordanova N, et al. Autosomal dominant spondylocostal dysostosis in three generations of a macedonian family: negative mutation analysis of DLL3, MESP2, HES7, and LFNG[J]. Am J Med Genet (Part A), 2010, 152(6): 1378-1382.
- (收稿日期: 2011-08-08 修回日期: 2011-09-10)
(英文编审 蒋欣/贾丹彤)
(本文编辑 李伟霞)

消息

第十二届全国经椎弓根内固定学习班暨脊柱固定新理念研讨会通知

近二十年来国内外脊柱内固定器械发展迅猛,内固定的应用领域也不断拓宽,取得了明显的疗效。但同时也出现了只重视内固定而忽视融合的问题,结果使部分疗效丧失,内固定失败率增高等问题也日渐突出。另一方面,在融合基础上发展起来的脊柱非融合技术(人工椎间盘、动态内固定等)亦快速发展,但适应证的选择存在较多的争议。为了加强对脊柱融合重要性及非融合技术的正确认识,中华医学会骨科分会脊柱学组、《中华骨科杂志》、《中国脊柱脊髓杂志》、《脊柱外科杂志》和海军总医院骨科拟定 2012 年 4 月中旬在北京联合举办第十二届全国经椎弓根内固定学习班暨脊柱固定新理念研讨会,届时将邀请国内著名脊柱外科专家做专题报告,同时安排学员进行尸体标本(或模型)操作训练。现将有关事宜通知如下:

一、时间:2012 年 4 月 13~17 日。

二、地点:北京。

三、内容:学习班授课及专题研讨内容:(1)颈、胸、腰椎椎弓根应用解剖学研究;(2)经椎弓根内固定的生物力学研究;(3)颈椎经椎弓根内固定及侧块螺钉内固定;(4)经椎弓根内固定的并发症与预防措施;(5)后路腰椎间融合(PLIF)、前路腰椎间融合(ALIF)及后外侧融合(PLF)的适应证与优缺点;(6)前路植骨融合在胸腰段骨折治疗中的作用;(7)脊柱手术并发症分析与处理;(8)人工颈、腰椎间盘置换的临床应用;(9)椎间盘源性腰痛的诊断与治疗原则;(10)导航系统在脊柱经椎弓根内固定中的应用;(11)棘突间非融合系统、动态内固定系统的临床应用等。实践内容:(1)标本操作:学员 6~8 人为一组,利用尸体脊柱标本(或模型)进行颈椎或胸腰椎椎弓根螺钉固定操作练习,提高对椎弓根内固定的理性认识;(2)看手术录像:通过看手术录像提高对经椎弓根内固定应用技术的实践认识。

四、报名及征文:北京阜成路 6 号海军总医院骨科何勃主任收,邮编 100048。截止日期:2012 年 3 月 31 日。有意大会发言者请寄 500~800 字摘要(最好 E-mail 发送),欢迎参会代表自带争论性病例参会并进行现场讨论。联系电话:(010)68780323,(010)66958224。E-mail: nghortho@yahoo.com.cn。

五、费用:参加学习班及研讨会的学员每人交会务费资料费 1000 元,同时参加标本操作者每人交材料费 500 元(标本数量有限,按报名顺序先后优先安排)。统一安排食宿,费用自理。本学习班属国家级继续医学教育一类项目,学习结束颁发结业证书,记 6 学分。