

基础研究

先天性脊柱侧凸患者中胚层后方同源物 2 基因
外显子突变的筛查

季明亮, 邱 勇, 钱邦平, 邱旭升, 吕 峰, 江 华, 丁 旗, 张 兴

(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:探讨汉族人群中中胚层后方同源物 2(mesoderm posterior 2, MESP2)基因外显子突变与先天性脊柱侧凸(congenital scoliosis, CS)发生的关系。方法:2010 年 5 月~2011 年 3 月在我院行手术治疗且有完整影像学资料的散发非综合征型 CS 患者 60 例(病例组),其中男 23 例、女 37 例,年龄 5~23 岁,平均 13.2 ± 3.8 岁;100 例健康体检者为对照组,其中男 42 例、女 58 例,年龄 12~16 岁,平均 12.9 ± 2.7 岁。两组对象均为中国汉族人群,性别相匹配。CS 患者分型:形成障碍 26 例,分节不良 13 例、混合型 21 例。从外周血中提取基因组 DNA,根据 Gene Bank 中人类 MESP2 基因外显子(共 2 个外显子, exon 1 和 exon 2)序列设计引物将该基因的两个外显子序列全部扩增出来,然后应用 DNA 自动测序仪对扩增出来的目的产物进行测序,将病例组 MESP2 基因两个外显子测序结果与对照组该基因外显子序列、美国 NCBI 基因库里公布的该基因外显子序列进行比对,将对对照组该基因外显子序列与美国 NCBI 基因库里公布的该基因外显子序列也进行比对。结果:病例组和对照组 MESP2 基因的 exon 1 和 exon 2 均未见突变及新的单核苷酸多态性位点。结论:中国汉族散发非综合征型 CS 患者 MESP2 基因外显子无突变,在中国汉族人群中 MESP2 基因外显子突变与散发非综合征型 CS 发病可能无关。

【关键词】先天性脊柱侧凸;DNA 突变分析;中胚层后方同源物 2 基因;外显子

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2012.03.13

中图分类号:R682.1, Q786 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2012)-03-0258-07

Mutation screening of exons of mesoderm posterior 2 gene in congenital scoliosis/JI Mingliang, QIU Yong, QIAN Bangping, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2012, 22(3): 258-264

【Abstract】Objectives: To explore the association between exons of mesoderm posterior 2(MESP2) gene mutations and the occurrences of congenital scoliosis (CS) in Chinese Han population. Methods: 60 sporadic nonsyndromic CS patients(23 males and 37 females) and 100 normal controls(42 males and 58 females) were recruited. The average age was 13.2 ± 3.8 years(range, 5-23) in CS patients and 12.9 ± 2.7 years(range 12-16) in normal controls. Both groups belong to Han Nationality.No significant differences of average age and sex distribution were found between the two groups. In CS patients, there were 26 cases with formation failure, 13 cases with a failure of segmentation, and 21 cases with mixed defects. The genome DNA was extracted from peripheral blood sample. Gene exons were amplified.The products of two exons of MESP2 gene were sequenced in all subjects. The sequence of two exons in MESP2 gene in CS group were compared with those in controls group and in NCBI gene bank respectively. Results: No mutation and new single nucleotide polymorphism were found in both two exons of MESP2 gene either in CS patients or in normal controls. Conclusions: No exon mutation of MESP2 gene was found in sporadic and non-syndromic CS in Chinese Han population. The exon mutation of MESP2 gene may not participate in the pathogenesis of sporadic nonsyndromic CS in Chinese Han population.

【Key words】Congenital scoliosis; DNA mutation analysis; Mesoderm posterior 2 gene; Exons

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

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

第一作者简介:男(1985-),硕士在读,研究方向:脊柱畸形

电话:(025)83105121 E-mail:823305196@qq.com 通讯作者:邱勇

先天性脊柱侧凸(congenital scoliosis, CS)是由于胚胎期中轴骨发育障碍引起的脊柱畸形,其发病率约为 0.5‰~1‰^[1]。胚胎期一种过渡性组织——“体节”决定脊椎的形成,其发育受影响可导致椎体畸形^[2]。体节形成的周期性和协调的体节分节过程由 Notch 信号通路的分节时钟(segmentation clock)调控^[3]。已有研究证实该信号通路相关基因外显子突变可导致体节发育异常,最终引起椎体畸形^[4~7]。中胚层后方同源物 2(mesoderm posterior 2, MESP2)基因是 Notch 信号通路的一个重要成员,参与脊椎的正常发育。有研究表明小鼠 MESP2 基因外显子突变可致严重的脊椎和肋骨畸形^[4]。人类 MESP2 基因外显子突变也可导致严重的脊椎肋骨畸形——脊椎肋骨发育不全(spondylocostal dysostosis, SCD)^[8]。迄今, MESP2 基因外显子突变与人类散发的非综合征型 CS 发生的关系未见报道。为此,本研究对 CS 患者的 MESP2 基因外显子进行突变筛查,探索中国汉族人群 MESP2 基因外显子突变与非综合征型 CS 发生之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2010 年 5 月~2011 年 3 月在我院行手术治疗且有完整影像学资料(包括全脊柱 X 线片、全脊柱 CT 三维重建、全脊柱 MRI 等)的 CS 患者 60 例,其中男 23 例,女 37 例,年龄 5~23 岁,平均 13.2±3.8 岁, Cobb 角 12.6°~43.9°, 平均 26.8°±6.2°,排除综合征型 CS(如 Goldenhar's 综合征、色素失调症、VACTERL 综合征、多发翼状赘肉综合征、Aarskog 综合征、Alagille 综合征、SCD 综合征、

Jarcho-Levin 综合征等)。根据 Hedequist 等^[9]提出的 CS 分型标准,1 型(形成障碍)26 例,2 型(分节不良)13 例,3 型(混合型)21 例。根据主要椎体畸形部位^[9]分为:胸椎型 22 例,腰椎型 27 例,混合型(胸椎、腰椎均有)11 例。18 例合并椎管内异常如脊髓拴系、脊髓纵裂、脂肪瘤、囊肿等。对照组为性别相匹配的健康体检人,其中男 42 例、女 58 例,年龄 12~16 岁,平均 12.9±2.7 岁。本研究获南京大学医学院附属南京市鼓楼医院伦理委员会的同意和认可。

1.2 MESP2 基因外显子突变的检测

1.2.1 基因组 DNA 的提取 利用“树脂型™基因组 DNA 提取试剂盒”(上海赛百基因技术有限公司)提取 CS 患者和对照组基因组 DNA。将全血混匀,转移 0.3~0.5ml 全血到 1ml 纯化树脂中,颠倒混匀 5~6 次。室温下温育 3min,其间颠倒混匀一次,5000r/min 离心 3s,收集沉淀。用 1ml GN 结合液将纯化树脂悬浮,颠倒混匀,5000r/min 离心 3s,收集沉淀。用 0.5ml 漂洗液漂洗纯化树脂 2 次,颠倒混匀,5000r/min 离心 3s,收集沉淀(如果纯化树脂仍然呈现黄色或褐色,则再漂洗 1 次)。用 0.8ml 无水乙醇悬浮,装入离心纯化柱,12000r/min 离心 1min,倒掉废液收集管中的乙醇,再离心 1min,尽量除尽乙醇。将离心纯化柱套入一个干净的 1.5ml 离心管中,加入 100μl TE 缓冲液于纯化树脂上(不能粘在管壁上),室温下放置 3min,12000r/min 离心 2min。

1.2.2 MESP2 基因外显子序列扩增 根据 Gene Bank 数据,人类 MESP2 基因共 2 个外显子(exon 1 和 exon 2),采用 Primer 5.0 软件对其外显子进行引物设计,共 4 对引物(表 1)。引物由上海英骏

表 1 MESP2 基因外显子序列引物

Table 1 Primers of exons sequence in MESP2

外显子	引物序列		退火温度(℃) Annealing Temp	产物大小(bp) Product size
Exon 1	引物 1 Primer 1	正向(Forward):GACACCTCTCTGCAACCTG 反向(Reverse):CACTGCAGACTCTCCTCGCT	62	549
	引物 2 Primer 2	正向(Forward):AAGATCGAGACGCTGCGCCT 反向(Reverse):CCTGGAGTAGATAAGCTGGG	60	651
Exon 2	引物 1 Primer 1	正向(Forward):CCAGCCATACCATGGCAAC 反向(Reverse):CCAAGCTACAGGACTGATTC	58	408
	引物 2 Primer 2	正向(Forward):CGCCTGGGCATCTTCTACAT 反向(Reverse):TTCCTTTCCAGAGGCAAGA	58	501

注:Exon 1、Exon 2 目的产物均较大,每个外显子均设计两对引物对其进行扩增

Note: Due to bigger product size of exon1 and exon2, each exon was amplified by two pair of primers

生物有限公司合成。PCR 扩增 MESP2 基因外显子。PCR 总反应体系为 50 μ l, 包括 25 μ l Mix 混合液, 2 μ l 基因组 DNA, 上下游引物 (10nmol/L) 各 1 μ l, 水 21 μ l。PCR 反应过程为 94 $^{\circ}$ C 1min, 94 $^{\circ}$ C 30s, 退火 45s (退火温度见表 1), 72 $^{\circ}$ C 30s, 32 个循环。PCR 完成后, 电泳检测目的基因片段 PCR 扩增产物。

1.2.3 PCR 产物的纯化和测序 采用 AxyPrep PCR (AXYGEN 公司) 清洁试剂盒法对 2 组 MESP2 基因外显子 PCR 产物进行纯化。主要步骤: (1) 在 PCR 反应液中, 加入 3 个体积的 Buffer PCR-A (若 Buffer PCR-A 不足 100 μ l, 加至 100 μ l); 混匀后, 转移到制备管中, 将制备管置于 2ml 离心管中, 12000r/min 离心 1min, 弃滤液。(2) 将制备管置回 2ml 离心管, 加 700 μ l Buffer W2, 12000r/min 离心 1min, 弃滤液。(3) 将制备管置于洁净的 1.5ml 离心管中, 在制备管膜中央加 25 μ l~30 μ l Eluent, 室温静置 1min。12000r/min 离心 1min 洗脱 DNA。将纯化好的 PCR 产物进行 DNA 自动测序仪测序 (北京华大生物公司)。具体步骤:

所有样本均采用正向测序, 正向测序引物均为扩增该片段正向引物, 测序引物浓度为 10nmol/L。用 Chromas 软件将病例组与对照组的测序结果与美国 NCBI 基因库所公布的 MESP2 基因外显子序列进行对比 (BLAST), 并将病例组的测序结果与对照组的测序结果进行比对。对可疑的序列片段行反向测序加以验证。

2 结果

2.1 扩增片段电泳

MESP2 基因两个外显子的 PCR 扩增产物经 1.5% 的琼脂糖胶电泳, 各 PCR 产物条带均与预期的片段长度相符合, 条带均清晰, 电泳结果显示均无异常 (图 1)。

2.2 测序结果

病例组和对照组 MESP2 基因 2 个外显子均未见突变及新的单核苷酸多态性位点。病例组和对照组 MESP2 基因 exon 2 的部分测序结果, 即 90~290kb 区间测序图谱见图 2~6。

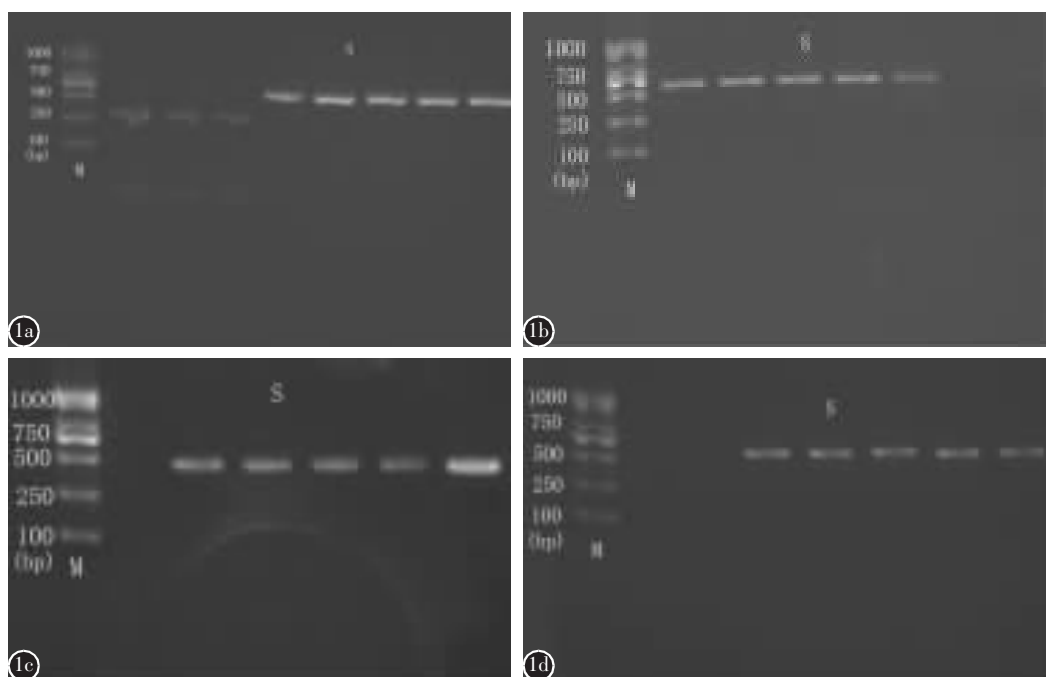


图 1 MESP2 基因外显子电泳图 (M: Marker; S: 表示不同 CS 患者 MESP2 基因外显子扩增结果) **a** exon 1 的引物 1 扩增片段, 长度 549bp **b** exon 1 的引物 2 扩增片段, 长度 651bp **c** exon 2 的引物 1 扩增片段, 长度 408bp **d** exon 2 的引物 2 扩增片段, 长度 501bp

Figure 1 PCR determination of exons of MESP2 gene (M: marker; S: results of exon amplification of MESP2 gene in different CS patients) **a** The product size (549bp) produced by primer 1 of exon 1 **b** The results of PCR determination (651bp) of primer 2 of exon 1 **c** The product size (408bp) produced by primer 1 of exon 2 **d** The results of PCR determination (501bp) of primer 2 of exon 2

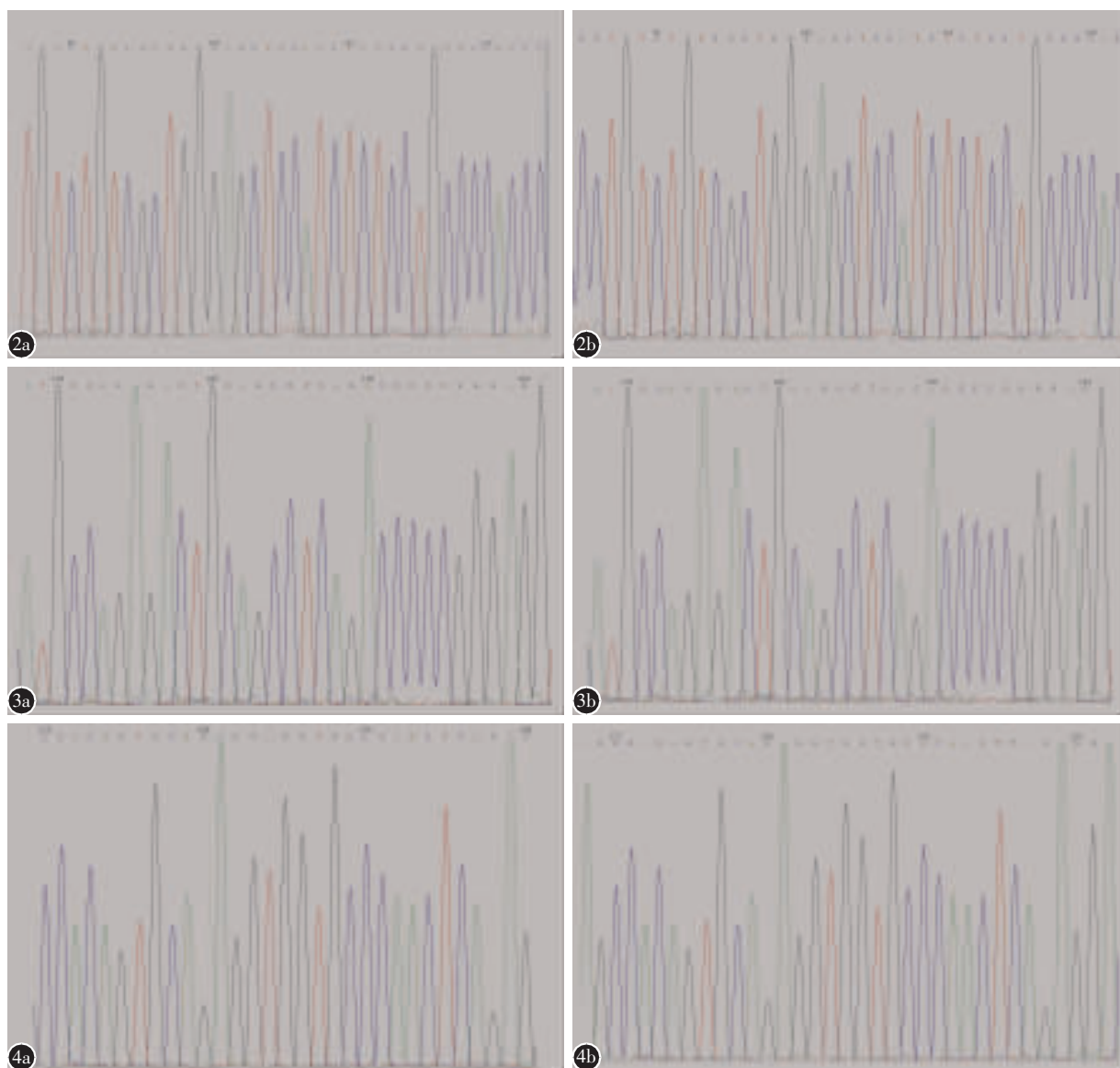


图 2 a 先天性脊柱侧凸(CS)患者(#38)MESP2 基因 exon 2 90~120bp 的测序图谱 **b** 对照组 MESP2 基因 exon 2 90~120bp 的测序图谱。患者与对照组 MESP2 基因 exon 2 90~120bp 相比无差异 **图 3 a** CS 患者 (#38)MESP2 基因 exon 2 130~160bp 的测序图谱 **b** 对照组 MESP2 基因 exon 2 130~160bp 的测序图谱。患者与对照组 MESP2 基因 exon 2 130~160bp 相比无差异 **图 4 a** CS 患者 (#38)MESP2 基因 exon 2 170~200bp 的测序图谱 **b** 对照组 MESP2 基因 exon 2 170~200bp 的测序图谱。患者与对照组 MESP2 基因 exon 2 170~200bp 相比无差异

Figure 2 a Sequencing chromatograph of exon 2 (90~120bp) of MESP2 gene in one CS patient (#38) **b** Sequencing chromatograph of exon 2(90~120bp) of MESP2 gene in a control. Compared with the control, no difference of sequence was found **Figure 3 a** Sequencing chromatograph of exon 2 (130~160bp) of MESP2 gene in one CS patient (#38) **b** Sequencing chromatograph of exon 2(130~160bp) of MESP2 gene in a control. Compared with the control, no difference of sequence was found **Figure 4 a** Sequencing chromatograph of exon 2 (170~200bp) of MESP2 gene in one CS patient(#38) **b** Sequencing chromatograph of exon 2(170~200bp) of MESP2 gene in a control. Compared with the control, no difference of sequence was found

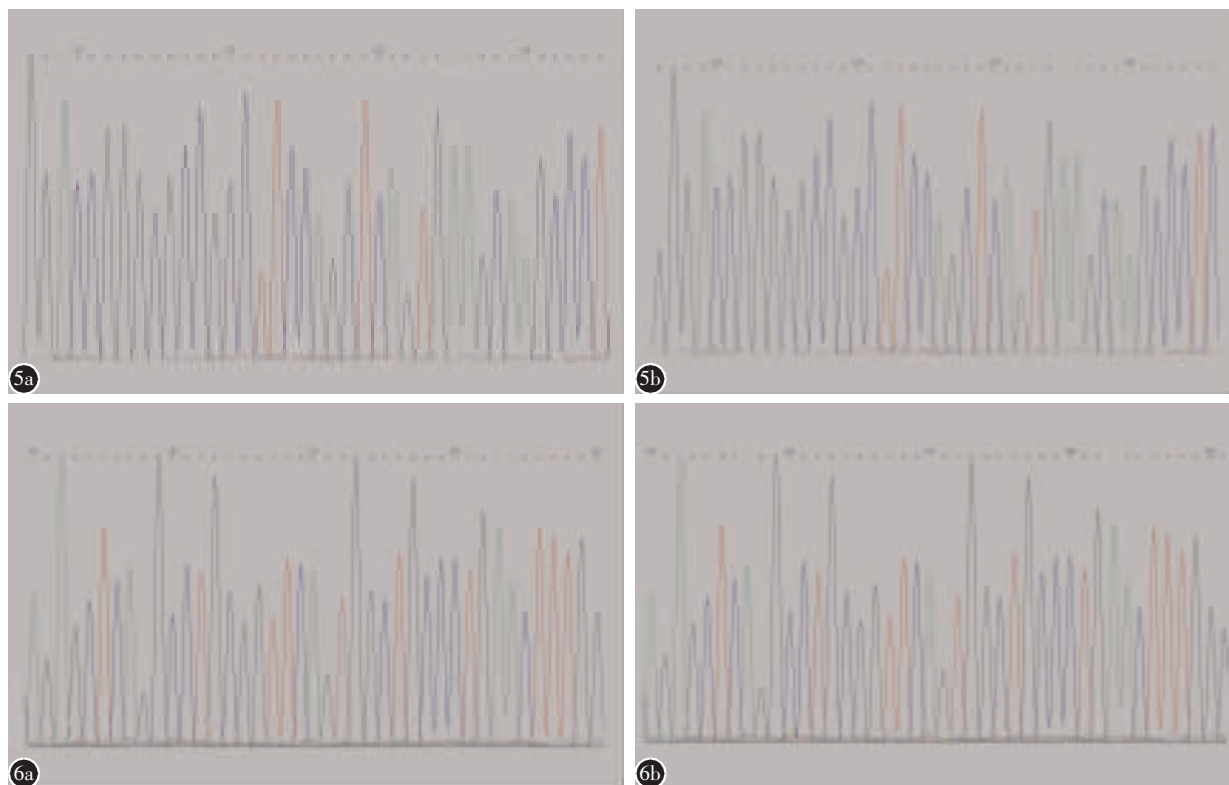


图 5 a CS 患者 (#38) MESP2 基因 exon 2 210~240bp 的测序图谱 b 对照组 MESP2 基因 exon 2 210~240bp 的测序图谱。患者与对照组 MESP2 基因 exon 2 210~240bp 相比无差异 图 6 a CS 患者 (#38) MESP2 基因 exon 2 250~290bp 的测序图谱 b 对照组 MESP2 基因 exon 2 250~290bp 的测序图谱。患者与对照组 MESP2 基因 exon 2 250~290bp 比无差异

Figure 5 a Sequencing chromatograph of exon 2 (210~240bp) of MESP2 gene in one CS patient (#38) b Sequencing chromatograph of exon 2(210~240bp) of MESP2 gene in a control. Compared with the control, no difference of sequence was found **Figure 6** a Sequencing chromatograph of exon 2 (250~290bp) of MESP2 gene in one CS patient (#38) b Sequencing chromatograph of exon 2(250~290bp) of MESP2 gene in a control. Compared with the control, no difference of sequence was found

3 讨论

CS 为一个或多个椎体部分或完全形成障碍,也可以是两个或数个椎体部分或完全分节不良,同一患者也可能同时存在这两种畸形,在脊柱冠状面、矢状面和水平面引起脊柱侧凸、后凸及旋转畸形。随脊柱的生长发育,绝大多数 CS 患者的脊柱畸形在幼儿期或儿童期不断进展,严重影响心、肺等重要脏器的正常发育,对患者的生命造成严重威胁^[11]。但迄今为止,CS 发病原因尚不清楚^[12]。诸多研究证实脊椎畸形可因控制“体节”发育的相关基因突变所致,也可能是妊娠中环境因素或这两个因素共同所致^[10,13-14]。

CS 的发生与控制脊椎前体——“体节”的形成与分节的基因异常密切相关。Notch、FGF、WNT 信号通路相关基因及这三条经典信号通路外的部

分基因调控脊椎前体——“体节”形成和正确分节,这些基因的异常与脊椎发育畸形密切相关^[15]。其中,Notch 信号通路对体节形成和有序的分节起着中心调控作用,动物实验研究证实该通路相关基因发状分裂相关增强子(hairy-and enhancer-of-split-7, HES7)、 δ 样 3(delta-like 3, DLL3)、极端同源物(lunatic fringe, LFNG)的外显子突变可导致脊椎融合、脊椎发育不良或缺失等严重脊椎畸形^[16]。Shinkai 等^[5]研究发现 DLL3 基因外显子突变可导致小鼠脊椎结构畸形、脊椎及肋骨融合。Zhang 等^[6]发现 LFNG 基因外显子突变的小鼠出现体节大小、形状不规则及椎体发育畸形。Bessho 等^[7]报道 HES7 基因外显子突变可导致小鼠体节的分节不能正常进行,最终导致脊椎和肋骨严重畸形。Saga 等^[4]报告 MESP2 基因敲除的小

鼠出现体节分节障碍, 脊椎相互融合。目前研究表明, 人类的 MESP2、HES7、DLL3、LFNG 基因外显子突变与人类脊椎发育畸形也密切相关^[8, 17-19]。但目前所报道的大部分病例均为严重的 SCD, 且均属于综合征型 CS, 主要表现为全脊柱脊椎严重分节不良、形成障碍或两种畸形同时存在, 可伴或不伴有脊柱侧凸。但通常所讲的 CS 是指非综合征型, 主要表现为轻度或中度的脊椎或肋骨畸形所导致的脊柱侧凸^[13]。

迄今, 尚未见 Notch 信号通路基因外显子突变是否与散发的非综合征型 CS 发生有关的研究。MESP2 基因位于人类 15 号染色体 q21.3, 是 Notch 信号通路的靶基因, 它编码 bHLH 型转录因子需耦合 Notch CSL 配体且需激活的 Tbx6 基因编码的转录因子发挥作用, 其主要功能是界定“体节”边界的形成及控制“体节”正确而有序的分节^[20]。Whitlock 等^[8]对 1 个家系中 SCD 患者进行研究, 发现 MESP2 基因 exon 1 发生一种纯合重复突变, 干扰其转录后的产物不能进行正常的剪切。Cornier 等^[21]对 12 个家系中 Jarcho-Levin 综合征患者 MESP2 基因外显子进行筛查, 发现该基因外显子发生两种突变, 即 E103X、E230X 无义突变和 L125V 错义突变, 这些突变导致终止密码子提前终止转录与 bHLH 区域一个保守亮氨酸的残缺, 最终引起脊柱发育畸形。然而, Gucev 等^[22]对一个家系中 SCD 患者 MESP2、HES7、DLL3 及 LFNG 基因外显子进行测序, 发现这些基因的外显子均无突变发生, 并认为可能与 Notch 信号通路其他基因异常有关。本研究对 60 例散发的非综合征型 CS 患者和 100 例健康人的 MESP2 基因两个外显子(exon 1 和 exon 2)进行测序, 结果显示病例组和对照组 MESP2 基因外显子均无异常。其可能原因:(1)本研究入选的病例都是病变较轻的、散发的非综合征型 CS(孤立性脊柱半椎体或伴肋骨畸形、分节不良及混合型), 排除了严重的病例或综合征型 CS。(2)本研究只选取 Notch 信号通路的一个基因——MESP2 基因, 而 Notch 信号通路其他基因 (HES7、DLL3 和 LFNG)、FGF、WNT 信号通路基因及这三条经典信号通路外的基因与脊椎前体——“体节”形成与分节也密切相关, 这些基因外显子异常与脊椎发育畸形也密切相关。Giampietro 等^[18]对散发的 50 例儿童和成人 CS 患者 DLL3 基因外显子测序, 发现 1 例 CS 患

者 exon 5 发生突变。Ghebranious 等^[23]对散发的 50 例儿童和成人 CS 患者 T 基因外显子筛查, 发现 3 例 CS 患者 T 基因外显子发生突变, 其中一例非综合征型 CS 患者表现为 T2~L1 水平半椎体畸形。本研究中 MESP2 基因的两个外显子测序结果均为阴性。既往文献^[13, 18, 19, 23, 24]研究结果提示 CS 患者的发病可能与 Notch 信号通路其他基因 (HES7、DLL3 和 LFNG 基因)、FGF、WNT 信号通路基因及这三条经典信号通路外的基因外显子异常有关。(3)基因和环境因素在 CS 发病中都起着重要作用^[12, 24]。Erol 等^[25]认为孤立性脊柱畸形如半椎体畸形的发生很可能与环境因素有关, 而严重脊柱畸形可能与基因突变有关。本研究未对入选病例环境因素进行研究, 因而不能排除环境因素在入选的 CS 患者发病机制中所起的作用。

由于 MESP2 基因每个外显子的测序图谱庞大, 我们仅给出该基因 exon 2 90~290kb(文献报道该区间易发生突变^[21])的对照组与病例组的测序图谱, 结果显示在该区间病例组 MESP2 基因 exon 2 无突变发生。

综上所述, 本研究结果表明中国汉族散发非综合征型 CS 患者 MESP2 基因外显子无突变, 中国汉族人群中 MESP2 基因外显子突变与散发非综合征型 CS 发病可能无关, 但需扩大样本量对该基因启动区域和内含子区域测序进一步验证。

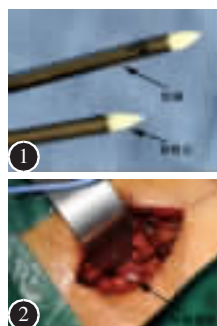
4 参考文献

1. Shands AR, Eisberg HB. The incidence of scoliosis in the state of Delaware: a study of 50000 minifilms of the chest made during a survey for tuberculosis [J]. J Bone Joint Surg Am, 1955, 37(6): 1243-1249.
2. Larsen W. Differentiation of the somites and the nervous system; segmental development and integration. In: Larsen W, ed. Human Embryology[M]. New York: Churchill Livingstone, 1997. 73-104.
3. Palmeirim I, Henrique D, Ish-Homwiez D, et al. Avian hairy gene expression identifies a molecular clock linked to vertebrate segmentation and somitogenesis[J]. Cell, 1997, 91(5): 639-648.
4. Saga Y, Hata N, Koseki H, et al. Mesp2: a novel mouse gene expressed in the presegmented mesoderm and essential for segmentation initiation[J]. Genes Dev, 1997, 11(14): 1827-1839.
5. Shinkai Y, Tsuji T, Kawamoto Y, et al. New mutant mouse with skeletal deformities caused by mutation in delta like 3 (DLL3) gene[J]. Exp Anim, 2004, 53(2): 129-136.

6. Zhang N, Gridley T. Defects in somite formation in lunatic fringe-deficient mice[J]. Nature, 1998, 394(6691): 374-377.
7. Bessho Y, Sakata R, Komatsu S, et al. Dynamic expression and essential functions of Hes7 in somite segmentation[J]. Genes Dev, 2001, 15(20): 2642-2647.
8. Whitlock NV, Sparrow DB, Wouters MA, et al. Mutated MESP2 causes spondylocostal dysostosis in humans [J]. Am J Hum Genet, 2004, 74(6): 1249-1254.
9. Hedequist D, Emans J. Congenital scoliosis[J]. J Am Acad Orthop Surg, 2004, 12(4): 266-275.
10. 费琦, 吴志宏, 原所茂, 等. 中国汉族人群 PAX1 基因多态性与先天性脊柱侧凸遗传易感性的关联研究 [J]. 中华医学杂志, 2008, 88(37): 2597-2602.
11. 邱勇, 朱丽华, 宋知非, 等. 脊柱侧凸的临床病因学分类研究[J]. 中华骨科杂志, 2000, 20(5): 265-268.
12. Hensinger RN. Congenital scoliosis: etiology and associations [J]. Spine, 2009, 34(17): 1745-1750.
13. 原所茂, 吴志宏, 魏斌, 等. HES7 基因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.
14. Fei Q, Wu ZH, Wang H, et al. The association analysis of TBX6 polymorphism with susceptibility to congenital scoliosis in a Chinese Han population[J]. Spine, 2010, 35(9): 983-988.
15. Deque'ant ML, Glynn E, Gaudenz K, et al. A complex oscillating network of signaling genes underlies the mouse segmentation clock[J]. Science, 2006, 314(5805): 1595-1598.
16. Ferjentsik Z, Hayashi S, Dale JK, et al. Notch is a critical component of the mouse somitogenesis oscillator and is essential for the formation of the somites [J]. PLoS Genet, 2009, 5(9): e1000662.
17. Sparrow DB, Guille'n-Navarro E, Fatkin D, et al. Mutation of hairy -and -enhancer -of -split -7 in humans causes spondylocostal dysostosis [J]. Human Molecular Genetics, 2008, 17(23): 3761-3766.
18. Giampietro PF, Raggio CL, Reynolds C, et al. DLL3 as a candidate gene for vertebral malformations [J]. Am J Med Genet, 2006, 140(22): 2447-2453.
19. Sparrow DB, Chapman G, Wouters MA, et al. Mutation of the lunatic fringe gene in humans causes spondylocostal dysostosis with a severe vertebral phenotype [J]. Am J Hum Genet, 2006, 78(1): 28-37.
20. Yasuhiko Y, Haraguchi S, Kitajime S, et al. Tbx6-mediated notch signaling controls somite-specific Mesp2 expression [J]. Proc Natl Acad, 2006, 103(10): 3651-3656.
21. Cornier AS, Staehling-Hampton K, Delventhal KM, et al. Mutations in the MESP2 gene cause spondylothoracic dysostosis/Jarcho-Levin syndrome[J]. Am J Hum Genet, 2008, 82(6):1334-1341.
22. 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, 2010, 152(6): 1378-1382.
23. Ghebranious N, Blank RD, Raggio CL, et al. A Missense T (Brachyury) mutation contributes to vertebral malformations[J]. J Bone Miner Res, 2008, 23(10): 1576-1583.
24. 费琦, 吴志宏, 王以朋, 等. 中国汉族人群 WNT3A 基因多态性与先天性脊柱侧凸遗传易感性的关系 [J]. 中华医学杂志, 2011, 91(11): 746-751.
25. Erol B, Tracy MR, Dormans JP, et al. Congenital scoliosis and vertebral malformations characterization of segmental defects for genetic analysis[J]. J Pediatr Orthop, 2004, 24(6): 674-682.
- (收稿日期:2011-06-27 修回日期:2011-08-16)
(英文编审 蒋欣/贾丹彤)
(本文编辑 李伟霞)

小窍门

如何术中控制椎根钉道内出血?



在骨科手术中,最忌讳的就是出血,软组织出血可以用结扎、电烧、双极电凝或压迫等方法进行止血,对于骨性创面出血,特别是椎弓根钉道内的出血,有时甚至很难处理。我们的操作小窍门是将骨蜡做成圆锥状置于钛棒顶端备用(图1),当椎弓根钉道钻好后,用制备好的骨蜡锥填压钉道内(图2),可以简便、快捷、确实、有效地控制椎弓根钉道出血。

中日友好医院 脊柱外科 李中实