

译文

骨形态发生蛋白诱导黄韧带骨化

原著: Shimpei Miyamoto, et al.

译自 The Journal of Bone and Joint Surgery, Vol. 74—B, No. 2, P. 279—283, March, 1992

湖北中医学院附属医院 (430061) 石晓兵译 梁克玉校

将骨形态发生蛋白(简称BMP)植入小鼠腰硬膜外腔,能使黄韧带肥大和骨化,并向髓腔内突起,导致脊髓受压,并出现不同程度的变性。在白质后索和侧索中可见髓鞘脱落,在灰质中出现神经元丧失或染色质溶解。

实验动物体内的病理改变所见和人体病况极为相似,提示BMP可能是人体内黄韧带骨化的病源因素。

强直性脊柱骨质增生症(简称ASH)是脊柱增生伴有韧带骨化。ASH患者经常发生后纵韧带和黄韧带骨化,并伴有严重的神经合并症。

黄韧带骨化(简称OLF)被认为是异位骨化的一种形式,但其病因仍不清楚。OLF多发生于中年人脊柱下胸段,同时可引起压迫性脊髓病。OLF患者有时可出现严重的神经功能障碍、步态失调、腿部运动无力及尿失禁等症状。由于本病易于复发或多发。椎板减压术及骨化韧带切除常常不能获得满意的疗效。而防止OLF发展的药物尚不清楚。

关于异位骨化的发病机理,能引起有丝分裂、细胞分化和基质合成的生长因子可能发挥着重要作用。骨、软骨和韧带对这些因子的反应引起了人们的极大关注。在这些生长因子中,BMP通过软骨质骨化能在异位诱导形成新骨。BMP是一种或一组多肽,有人认为它能促使出生后机体的间充质类细胞分化成软骨细胞和成骨细胞。BMP存在于正常的骨组织中,有关其生理和病理作用方面的研究尚在进行。由于BMP是一种骨诱导物质,因而它有可能是引起脊柱韧带骨化的因素之一。本研究是为了明确BMP在动物实验中能否诱导黄韧带骨化和继发性脊髓受压。

材料和方法

用48只鼠龄为24周的成年雄性ICR—Strain小鼠。每只重约60g,实验组30只,对照组18只。

BMP的制备: BMP是从鼠骨肉瘤中提取的,并根据

资料中所述的方法进行了部分纯化。当将其移植于体内时,其活性部分可溶于盐性溶液中并能向周围扩散。将BMP和发育不全肽I型胶原在0.01N盐酸溶液中充分混合,然后冻干。胶原在此处作为BMP的释放系统,可防止其快速扩散,使其缓慢而持久地释放出来。

BMP的移植: 实验组小鼠用氯胺酮腹腔注射麻醉,在无菌条件下沿棘突皮肤纵形切开,将脊旁肌肉从棘突和椎板处分离开,切除L<sub>2</sub>至L<sub>5</sub>或L<sub>3</sub>至L<sub>4</sub>的棘上韧带和棘间韧带,借助手术显微镜,在左右黄韧带之间沿中线扩开一裂隙。将两块BMP/胶原混合物薄片(0.1mg)置于后外侧硬膜外间隙,一片和右侧黄韧带相接触,另一片和左侧黄韧带接触,逐层缝合背侧脊柱旁肌肉和筋膜,然后缝合皮肤关闭伤口。

按照相同术式处理对照组小鼠,不过置入硬膜外腔的只是胶原。

实验设计: 在术后4周、6周、8周按10个小鼠一批分批处死实验组小鼠(E<sub>4</sub>、E<sub>6</sub>和E<sub>8</sub>组);在同样的间隔时间里将对对照组小鼠按6个一批分批处死。切下整个脊柱胸腰段连带脊柱旁软组织,用低放射量的X光机拍摄前后位和侧位X片,然后将其放入福尔马林中固定,用蚁酸脱钙。在每组标本中,一半标本纵切,一半标本横切,全部标本用石蜡包埋后切片,片厚5~6μm,切片用苏木精和伊红,甲苯胺蓝,elastic Van Gieson和Kluver-Barrera染色剂染色,在光学显微镜下观察。

结果

神经学所见: 在8周的观察期内,实验组和对照组中的小鼠均未出现后腿肌无力和步态失调症状。

放射学所见: 所有实验组小鼠侧位X线片中均显示: 自手术部位的椎板发生一对鸟喙样钙化突起并向髓腔内突出。突起的头、尾部未出现连结,甚至突

起较大时也是如此。借助X线侧位片,测量突起在髓腔前后径中占据的宽度,来确定骨突起所引起的髓腔狭窄程度,狭窄程度在E<sub>1</sub>组中是34.7%±10.9(̄X±SD),在E<sub>2</sub>组中是42.8%±12.3,在E<sub>3</sub>组中是46.4%±13.9。E<sub>1</sub>组和E<sub>3</sub>组的结果明显不同(P<0.05,t检验),表明骨突起随时间的延长而增长。

在对照组中,小鼠的正位和侧位X光片中均未见异常阴影。

组织学所见:1.黄韧带:在E<sub>1</sub>组中,可见黄韧带肥大。两个新形成的骨性突起从邻近椎板的腹侧面向髓腔内突起,与硬脊膜发生粘连并压迫脊髓。在骨突起的头尾部之间可见到纤维和软骨组织。在肥大的黄韧带腹侧骨化更加明显,而背侧出现了变性,其胶原纤维呈不规则的玻璃样变,弹性纤维也有部分破坏。

在E<sub>2</sub>组和E<sub>3</sub>组中,软骨内骨化更加明显。骨化沿肥大韧带进一步延伸,但头、尾部没有完全连接。它们之间有一些嵌插的纤维和软骨组织。在背层原始黄韧带的残余部分内,弹性纤维减少,并散在于新生的纤维软骨组织内。

在对照组中,韧带的纤维结构完整,未见新骨和软骨形成。

2.脊髓:在E<sub>1</sub>组中,脊髓因骨化的黄韧带压迫而变形。尽管如此,脊髓几乎没有变性。

在E<sub>2</sub>、E<sub>3</sub>组中,脊髓严重变形。在中等变形的标本中,白质后索和侧索可见脱髓鞘现象,白质前索却未见到。在前角,灰质完整,无神经元减少及染色质溶解现象发生。在严重变形的标本中,灰质和白质均有变性,在白质后索和侧索中有明显的髓鞘脱落和轴

突纤维丧失,但在白质前索中很少见髓鞘脱落。在前角也可见到神经元缺失和染色质溶解。E<sub>3</sub>组的脊髓变性较E<sub>1</sub>组的一般要严重得多。

在对照组中,脊髓未发生变形或变性。

### 讨 论

黄韧带骨化最先是由Polgar (1929年)报道的。正如 Yamaguchi, Tamagake和Fujita (1960)所描述的那样,它被视为一种胸部脊髓病的重要原因。有几篇报导讨论了OLF的病理、诊断和治疗,但其发生原因仍不清楚。

Okada等(1991年)详细描述了OLF的病理:黄韧带丧失了正常的纤维结构,并被含有大量纤维软骨细胞的肥大纤维组织所代替。OLF是由沿肥大韧带腹侧发展的软骨内骨化所引起。

本研究显示:动物模型的病理学变化与 Hattori等报道的人类情况极为相似。在小鼠体内,BMP在黄韧带中诱导产生的损害同人类患者的OLF非常相似,提示BMP可能是某些自发性疾病、黄韧带骨化、强直性脊柱骨质增生症和前纵韧带骨化的起因。然而,本研究所使用的BMP并未完全纯化,其中可能含有一些污染物如转化性生长因子β (TGF-β),有人认为它可能是一种软骨-骨生长因子,因此TGF-β在骨化过程中起了部分作用。

虽然在实验动物中未出现神经学症状,但有脊髓的缓慢受压和变形,从而导致脊髓的组织学改变,因此本实验模型可能适合于慢性压迫引起的脊髓病方面的研究。为了弄清脊髓病的病理机制,进一步研究是必要的。

(上接46页)

1989; 83:647.

9. Yan I, et al. Some recombinant human cytokines stimulate glycosaminoglycan synthesis. Chin Orthop 1990; 259:233.  
 10. O'Conner MI, et al. Ewing's sarcoma. Clin Orthop 1991; 262:78.  
 11. Overall CM, et al. Independent regulation of collagenase. J Biol Chem 1989; 264:1860.  
 12. Takahashi N, et al. Osteoclast-Like cells

form in long-term human bone marrow. J Clin Invest 1989; 83:543.

13. Horowitz MC, et al. Parathyroid hormone and Lipopolysaccharide induce murine osteoblast-like cells to secrete a cytokine. J Clin Invest 1989; 83:149.  
 14. Weir EY, et al. Osteoblast-like cells secrete granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. Endocrinology 1989; 124:899.