

· 基础研究 ·

牵张应力环境下六味地黄汤含药血清对成骨细胞增殖分化影响的实验研究

程婉, 汤小康, 应航, 李敏
(浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

【摘要】 目的:探讨不同时间、不同形变量的牵张应力环境下,六味地黄汤含药血清对体外培养的新生 SD 大鼠成骨细胞增殖分化的作用。方法:制备血清后,将六味地黄汤含药血清及空白对照血清分别作用于 2 组成骨细胞 24 h,然后采用频率 0.5 Hz、形变量分别为 6%和 12%的牵张应力,对六味地黄汤含药血清组及空白血清对照组的成骨细胞进行力学加载,分别于 12、24 h 行碱性磷酸酶(ALP)活性测定(检测各组碱性磷酸酶活性)和 MTT 检测(检测受力后各组成骨细胞增殖的情况),并利用统计学软件对相关数据进行分析。结果:①在牵张应力环境下以 0.5 Hz 的频率牵拉成骨细胞 24 h,6%与 12%的形变量均能刺激成骨细胞增殖与分化,其中 12%的形变量作用优于 6%的形变量。②六味地黄汤含药血清短时间刺激对体外培养的 SD 大鼠成骨细胞尚未见促进增殖分化作用。结论:牵张应力环境能促进体外培养的成骨细胞增殖和分化,短时间六味地黄汤含药血清作用对成骨细胞影响不明显。

【关键词】 应力,物理; 成骨细胞; 细胞增殖; 补肾药

DOI:10.3969/j.issn.1003-0034.2013.02.015

Influence of serum containing Liuwei Dihuang decoction (六味地黄汤) on proliferation of osteoblasts under stretch-stress environment CHENG Wan, TANG Xiao-kang, YING Hang, and LI Min. Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053, Zhejiang, China

ABSTRACT Objective: To study influence of serum containing Liuwei Dihuang decoction (六味地黄汤) on proliferation and differentiation of osteoblast from neonatal SD rats cultured in vitro at different times and different stretch stress. **Methods:** After osteoblast cultured for 24 hours in the serum containing Liuwei Dihuang decoction (六味地黄汤) and serum in control group, the 0.5 Hz frequency, 6% and 12% stretch-stress were added. The MTT and the activity of ALP were measured at the 12th and 24th hours, and the data were analyzed. **Results:** ① In the environment of stretch stress to the frequency of 0.5 Hz, and stretched for 24 hours, the osteoblast was stimulated under elongation rate of 6% and 12%; the proliferation and differentiation of osteoblast was more active under elongation rate of 12% than that of 6%. ② There were no stimulating effects on osteoblast proliferation and differentiation of serum containing Liuwei Dihuang decoction (六味地黄汤) acted on osteoblast cells of SD rats cultured in vitro for a shot time. **Conclusion:** Stretch stress environment can enhance osteoblast proliferation and differentiation cultured in vitro.

KEYWORDS Stress, mechanical; Osteoblasts; Cell proliferation; Kidney-reinforcing drugs

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2013, 26(2): 142-146 www.zggszz.com

成骨细胞是骨组织中机械应力的主要效应细胞,研究力学刺激对成骨细胞的作用可为探讨体内骨骼力学应答现象提供实验依据。中医理论认为,“肾藏精,主骨生髓”,即补肾中药对骨骼的生长发育、强壮衰老有重要作用。六味地黄汤是补肾的基本方,作用重在滋阴补肾、强筋壮骨,在骨科应用较广,临床疗效显著。研究发现,六味地黄丸能有效抑制细

胞色素 C 的释放,减缓软骨细胞凋亡^[1],不仅是治疗肝肾不足、湿热痹阻型强直性脊柱炎安全而有效的方法^[2];而且能有效提高原发性疏松症患者的骨密度,尤其是腰椎的骨密度^[3]。本实验拟观察牵张应力环境下,六味地黄汤含药血清对成骨细胞增殖活性的影响,为探讨机械应力诱导骨生长的力学细胞生物学机制提供实验依据,并对六味地黄汤促进成骨细胞增殖活性的作用进行初步研究。

1 材料与方法

1.1 材料与实验动物

1.1.1 主要仪器 二氧化碳恒温培养箱(德国 Thermo 电子公司),双人单面超净工作台(苏州净化

基金项目:浙江省中医药科学研究基金计划(编号:2010ZA020);浙江省自然科学基金(编号:Y2110928)

Fund programs: Provided by National Natural Science Foundation of Zhejiang Province (No. Y2110928)

通讯作者:应航 E-mail: yh@zjtcn.net

设备有限公司), 倒置显微镜及显微拍摄系统(德国 Leica 公司), 台式自动平衡离心机(北京医用离心机厂), BioTek 800 酶标仪(美国 BioTek 公司), 电子天平(德国 Sartorius 公司), 细胞牵拉装置 Flexcell FX-4000T(美国 Flexercell International Corp. 公司)。

1.1.2 主要试剂与材料 10%水合氯醛(浙江省中医院制备), RPMI 1640 培养基(美国 Gibco 公司), 胎牛血清(杭州四季青生物公司), 0.25%胰蛋白酶(吉诺生物医药技术有限公司), I 型胶原酶(达文生物有限公司), MTT 试剂盒(北京普利莱基因技术有限公司), 碱性磷酸酶活性测定试剂盒(南京建成生物公司), 碱性磷酸酶试剂盒(南京建成生物公司), PBS 缓释液(吉诺生物医药技术有限公司), 96 孔平板细胞培养板(美国 Corning 公司), Flexcell 专用六孔培养板(美国 Flexercell International Corp. 公司)。

1.1.3 实验动物 SD 大鼠 30 只, 雄性, 清洁级, 体重(200±20) g, 由浙江中医药大学动物实验中心提供, 用于制备含药血清。新生 SD 大鼠乳鼠 6 只, 雄性, 清洁级, 由浙江中医药大学动物实验中心提供, 用于成骨细胞培养。

1.2 血清制备

1.2.1 药物选取 六味地黄汤成药(由浙江中医药大学药物制剂室提供, 主要成分为熟地黄、山茱萸、山药、泽泻、丹皮、茯苓等)。

1.2.2 含药与空白血清的制备 取健康雄性 SD 大鼠 30 只, 随机分为六味地黄汤组和空白对照组, 每组 15 只。给药剂量均按人日用临床剂量, 经“人-大鼠体表面积比值”折算成相当于人的临床剂量给药, 以每 100 g 大鼠灌胃 1 ml(含生药量 2 g)计算给药浓度, 空白对照组给予等量生理盐水。连续给药 1 周, 末次给药后 2 h, 采取 10%水合氯醛腹腔注射麻醉, 心脏取血。所取血液 4℃保存 2 h 后, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上层血清; 56℃30 min 水浴灭活, 同组血清混匀, 并经 0.45 μm 和 0.22 μm(光面朝上)滤膜抽滤除菌, 每瓶 4 ml 分装, 于-20℃条件保存备用。

1.3 成骨细胞培养传代、鉴定及分组

1.3.1 成骨细胞体外培养传代 取新生 24 h, SD 大鼠乳鼠 6 只, 颈椎脱臼处死后, 以 75%乙醇浸泡 10 min 取出。揭去头顶皮肤, 切下头盖骨置于 PBS 液内, 清除骨膜、血管等结缔组织, 用 PBS 液清洗 2 次后, 将清洗至发白的头盖骨剪成 1 mm×1 mm 小片。将骨片移入 5 ml、0.25%胰蛋白酶溶液内, 37℃下预消化 20 min, 以清除纤维组织。将骨片移入另一含 5 ml 0.1% I 型胶原酶溶液中, 37℃振荡消化分离细胞 60 min, 收集消化液。将收集的消化液在 1 000 r/min

下离心 10 min, 吸去上清液, 沉淀的细胞团块用培养液制成细胞悬液; 剩余骨片重复用 I 型胶原酶震荡消化、离心, 制成细胞悬液。将 2 次细胞悬液混匀、计数, 移入培养板、培养瓶, 置于 37℃, 5%CO₂ 培养箱中培养。24 h 左右换液 1 次, 以后每 2~3 d 换液 1 次, 至细胞长成融合状态进行细胞常规传代。

1.3.2 成骨细胞的鉴别

(1) 细胞形态学观察。培养 24 h 细胞贴壁后, 可将 2 组盛有成骨细胞的培养瓶置于倒置荧光显微镜下进行观察、拍照。

(2) 碱性磷酸酶染色。用碱性磷酸酶试剂盒采用重氮盐法(改良 Kaplow 氏法)行碱性磷酸酶染色。步骤如下: ①固定。抽吸 24 孔培养板中 1 孔或多孔的培养液, 用 PBS 缓冲剂清洗 2 次, 待干燥后, 滴加固定液固定 3 min。②加底物应用液。固定样本后, 滴加底物运用液, 将培养板放入湿盒(含双蒸水纱布的容器)避光 37℃孵育 15 min, 用双蒸水水洗。③复染。趁湿用复染液复染(苏木素或甲基绿)3 min 左右, 水洗, 显微镜下观察。

1.3.3 细胞分组 将细胞分 6 组, 分别为: 生理盐水血清对照组, 六味地黄汤含药血清对照组, 生理盐水血清 6%牵张形变组, 六味地黄汤含药血清 6%牵张形变组, 生理盐水血清 12%牵张形变组, 六味地黄汤含药血清 12%牵张形变组。每组 12 孔(分别用于 12、24 h 检测), 接种每毫升 1×10⁵ 个第 3 代细胞混悬液 2 ml。

1.4 干预措施

1.4.1 血清干预 接种好的细胞, 采取无血清培养基同步化培养 24 h。细胞贴壁后, 生理盐水血清对照组、生理盐水血清 6%牵张形变组、生理盐水血清 12%牵张形变组分别加入等量 15%的空白血清培养基; 六味地黄汤含药血清对照组、六味地黄汤含药血清 6%牵张形变组、六味地黄汤含药血清 12%牵张形变组分别加入等量 15%的六味地黄汤含药血清培养基。置于 37℃, 5%CO₂ 培养箱中培养 24 h。

1.4.2 成骨细胞力学加载 对相应组别施加应力, 具体方法如下: 生理盐水血清对照组、六味地黄汤含药血清对照组不施加牵张应力, 常规培养; 生理盐水血清 6%牵张形变组、六味地黄汤含药血清 6%牵张形变组, 在采用 0.5 Hz 频率、6%的形变量牵张应力条件下, 常规培养; 生理盐水血清 12%牵张形变组、六味地黄汤含药血清 12%牵张形变组在采用 0.5 Hz 频率、12%的形变量牵张应力条件下, 常规培养。

1.5 观察指标与方法

1.5.1 碱性磷酸酶(ALP)定量测定 各组细胞分别于 12、24 h 后取 6 孔上清液, 按试剂盒操作说明

在酶标板上分测定孔、标准孔、空白孔,测定孔加入各组细胞上清液,每孔 30 μl,标准孔加入浓度为 0.02 mg/ml 酚标准应用液 30 μl,空白孔加入双蒸水 30 μl。每孔继续加入缓冲液 50 μl,基质液 50 μl,充分混匀后,将酶标板置于 37 °C 水浴 15 min,各孔加入显色剂 150 μl,轻轻振荡孔板均匀,在波长 520 nm 下,酶标仪测定各孔吸光度。测定后计算碱性磷酸酶含量。公式如下:

$$\text{ALP (金氏单位)} = (\text{测定孔吸光度} - \text{空白孔吸光度}) / (\text{标准孔吸光度} - \text{空白孔吸光度}) \times \text{酚标准品浓度} (0.02 \text{ mg/ml}) \times 100 \text{ ml} \times \text{样品测定前稀释倍数}$$

单位定义:100 ml 的液体在 37 °C 与基质作用 15 min 产生 1 mg 酚为 1 个金氏单位。

1.5.2 成骨细胞增殖测定 (MTT 法) 各组细胞分别于 12、24 h 后取 6 孔,弃细胞上清液,换为无血清细胞培养液,每孔 2 ml,同时加入质量浓度为 5 g/L 的 MTT 溶液,每孔 200 μl,37 °C 继续孵育 4 h 后终止培养,小心吸弃孔内的培养液。每孔加入 2 ml MTT 溶解剂,振荡 10 min。将每孔溶液以 100 μl 分组加入 96 孔培养板中,于 570 nm 波长处测定吸光度值 (OD),比较各孔 OD 值大小。

1.6 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,计量资料以均数±标准差表示,多样本均数的两两比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA),方差齐性采用 LSD 法,方差不齐采用 Dunnett's T3 法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成骨细胞鉴定结果

2.1.1 细胞形态学鉴别 培养 24 h 后,细胞多呈梭形、三角形或有 2~3 个突起,胞质透亮、饱满 (图 1),符合成骨细胞形态学特征。

2.1.2 碱性磷酸酶 (ALP) 染色结果 重氮盐法 (改

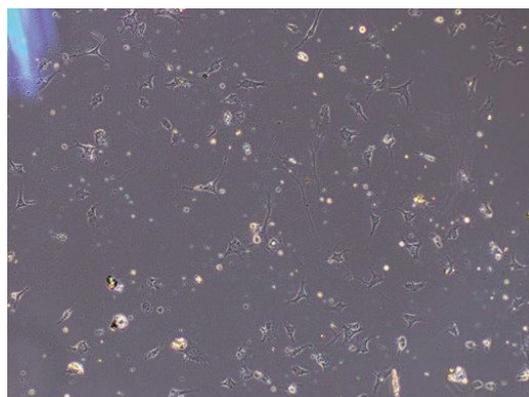


图 1 第 1 代成骨细胞形态 (10×10),成骨细胞呈长梭形,有少量的突触

Fig.1 Appearance of the first generation osteoblasts (10×10), osteoblasts were spindle-shaped with short dendrites

良 Kaplow 氏法)碱性磷酸酶染色显示,细胞胞浆内含 cAKP 颗粒 (见图 2),ALP 阳性。

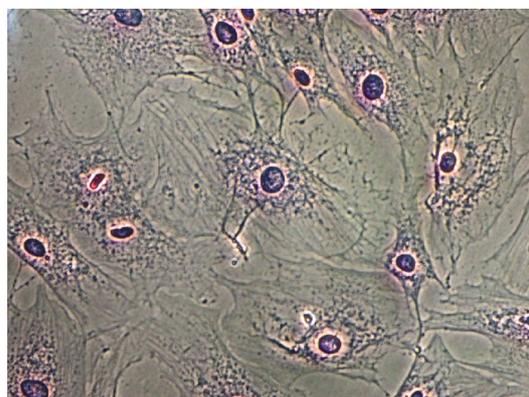


图 2 第 1 代成骨细胞苏木素染色,cAKP 阳性 (10×40)

Fig.2 The cells were stained for hematoxylin,the first generation osteoblasts were positive for AKP (10×40)

2.2 成骨细胞增殖分化能力检测结果

2.2.1 12 h 成骨细胞碱性磷酸酶 (ALP) 活性及细胞增殖活性 (MTT) 检测结果 生理盐水血清对照组

表 1 12 h 和 24 h 各组成骨细胞碱性磷酸酶 (ALP) 活性及细胞增殖活性 (MTT) 检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Comparison of ALP and MTT at 12 h and 24 h among different groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	孔数 (个)	12 h		24 h	
		ALP (金氏单位)	MTT (OD 值)	ALP (金氏单位)	MTT (OD 值)
生理盐水血清对照组	6	3.439 0±0.025 5	0.232 8±0.007 6	3.780 0±0.028 9	0.241 3±0.002 1
含药血清对照组	6	3.442 5±0.025 6*	0.233 5±0.003 6*	3.771 8±0.045 2*	0.241 5±0.001 8*
生理盐水血清 6%形变组	6	3.433 2±0.053 7	0.234 5±0.004 8	4.604 3±0.024 2	0.267 0±0.003 4
含药血清 6%形变组	6	3.440 8±0.036 6▲▼	0.235 5±0.005 2▲▼	4.608 8±0.053 3▲△	0.265 0±0.001 5▲△
生理盐水血清 12%形变组	6	3.445 2±0.037 1	0.234 8±0.003 7	4.979 8±0.046 5	0.291 3±0.002 3
含药血清 12%形变组	6	3.442 5±0.039 0*▼	0.234 7±0.003 1*▼	4.974 8±0.042 3*△#	0.291 8±0.001 2*△#

注:两个对照组比较,* $P > 0.05$;2 个 6%形变组比较,▲ $P > 0.05$;两个 12%形变组比较,* $P > 0.05$ 。与 12 h 含药血清对照组比较,▼ $P > 0.05$;与 24 h 含药血清对照组比较,△ $P < 0.05$;与 24 h 含药 6%形变组比较,* $P < 0.05$

Note: Comparison between two control groups, * $P > 0.05$; comparison between two 6% compression groups, ▲ $P > 0.05$; comparison between two 12% compression groups, * $P > 0.05$. Compared to control group with Chinese medicine of 12 h, ▼ $P > 0.05$; compared to control group with Chinese medicine of 24 h, △ $P < 0.05$; compared to 6% compression group with Chinese medicine of 24 h, # $P < 0.05$

与含药血清对照组培养 12 h, 成骨细胞 ALP 和 MTT 检测结果差异均无统计学意义; 各加力组(盐水 6% 形变组、含药 6% 形变组、盐水 12% 形变组、含药 12% 形变组)在加力频率为 0.5 Hz 条件下, 分别加载 6% 和 12% 的牵张应力 12 h, 各组成骨细胞 ALP 和 MTT 检测结果差异均无统计学意义(见表 1)。

2.2.2 24 h 成骨细胞碱性磷酸酶(ALP)活性及细胞增殖活性(MTT)检测结果 盐水血清对照组与含药血清对照组培养 24 h, 成骨细胞 ALP 和 MTT 检测结果差异均无统计学意义; 各加力组(盐水 6% 形变组、含药 6% 形变组、盐水 12% 形变组、含药 12% 形变组)在加力频率为 0.5 Hz 条件下, 分别加载 6% 和 12% 的牵张应力 24 h, 各组成骨细胞的 ALP 和 MTT 检测结果的差异有统计学意义, 24 h 含药 6% 形变组和 24 h 含药 12% 形变组的 ALP 及 MTT 值均大于 24 h 含药血清对照组, 且 24 h 含药 12% 形变组的 ALP 及 MTT 值大于 24 h 含药 6% 形变组(见表 1)。

3 讨论

3.1 力学刺激对成骨细胞的作用 在生理状态下, 骨组织为适应机体活动所需的物理支持而在不断地改建和塑形, 以满足不同个体对动作或姿势的特殊需求, 即使在骨骺闭合后, 如长期暴露于某一特定的力学环境, 仍可出现骨骼的重塑形, 使负重部位骨量增多。同样, 当骨组织长期失去正常的力学刺激, 已矿化的骨骼也可出现明显的脱钙、疏松, 临床上长期卧床或制动都可导致相应的部位出现骨质疏松。研究表明, 机械力刺激是骨折修复、正畸牙移动、牵张成骨以及骨压缩等骨组织改建中骨形成和改建的关键因素^[4]。成骨细胞在适当应力刺激下可加快增殖和分化, 分泌骨基质, 促进骨形成。根据细胞的来源、环境, 如激素水平, 施加的力的大小、性质的不同和供体的年龄不同, 细胞对力学刺激的反应亦不同。Song 等^[5]发现流体剪切力与基质蛋白的表达有密切关系, 成骨细胞受流体剪切力刺激后, 可明显增加骨桥蛋白和碱性磷酸酶的表达, 同时 I 型胶原、核心蛋白多糖分泌也明显增多。李菲菲等^[6]研究发现成骨细胞在机械牵张应力作用下蛋白表达发生显著变化, 这些差异蛋白参与了成骨细胞力学反应机制的不同过程。本实验通过 Flexercell 公司生产的细胞加载系统分别对体外培养的大鼠成骨样细胞和六味地黄汤含药血清培养的大鼠成骨样细胞施加一系列不同大小的牵张应力, 观察成骨细胞的增殖活性方面的改变, 从药物与力学结合角度来阐述成骨细胞受力学刺激后的一系列变化, 为骨质疏松等一系列的骨系疾病提供一个新的治疗思路。

3.2 六味地黄汤对成骨细胞的作用 中医药治疗

骨质疏松有良好效果, 六味地黄汤作为补肾基本方而应用于骨科临床。本实验将中药六味地黄汤作用于成骨细胞, 观察细胞的增殖与分化, 从另一个侧面反映中药对骨质疏松的作用。本实验六味地黄汤含药血清对成骨细胞无明显作用, 可能与含药血清和细胞作用时间过短有关。

3.3 牵张应力对成骨增殖和分化的影响 本实验在牵张应力环境下用中药六味地黄汤含药血清作用于成骨细胞, 将第 3 代成骨细胞按一般传代方法接种至 Flexcell 专用六孔培养板上, 接种后先用不含血清培养基进行饥饿培养, 使细胞同步化后牵拉。经过 MTT 检测法发现牵拉 12 h, 各组之间无显著差异。牵拉 24 h 后, 6% 和 12% 的形变量对成骨细胞具有促进增殖作用, 且 12% 的形变量比 6% 形变量促细胞增殖作用更明显。通过观察和测定, 证实牵张应力可以明显促进体外培养 SD 大鼠成骨细胞的增殖, 且随着刺激时间的延长, 形变量的增大, 对成骨促增殖作用更加明显。

碱性磷酸酶(ALP)是主要分布于细胞膜的钙结合转运蛋白, 促进细胞成熟、钙化^[7]。ALP 活性增强时, 骨形成增强, 并促进骨基质矿化形成, 故 ALP 的活性是反映成骨细胞分化程度和功能状态的良好指标。本实验结果表明牵张应力能够促进成骨细胞分泌 ALP, 增强 ALP 活性, 促进成骨细胞的分化, 增强成骨细胞骨基质的形成。应变下 ALP 的活性, 不同文献有不同报道, 胡静等^[8]利用细胞拉伸加载装置对细胞施加 12% 的应变, 发现在施加张应力作用后 6、12、24 h 均增高, 加载时间越长, 增加越明显。唐丽灵等^[9]发现 500 微应变下, 成骨细胞加载 24 h, 拉伸刺激提高了成骨细胞 ALP 的活力, 而在 1 000 微应变加载 24 h, 拉伸则使成骨细胞的 ALP 活力降低。而本实验随着拉伸时间延长, 形变量加大, 细胞产生 ALP 增多。

总之, 本实验用牵张应力和含药血清结合作用于成骨细胞, 但是在具体操作上还有许多不足之处, 虽然模拟了应力作用下体内环境产生的药理效应, 但是毕竟体内细胞承受的应力环境较为复杂, 单纯的体外实验尚无法替代体内的真实情况, 且药物的给药剂量、制备方法、产生效应的时间等尚缺乏相关研究。因此, 在今后的研究中, 需要进一步探索力学与药物环境下成骨细胞的变化, 使两者更好结合, 以利于推动力学生物学的发展。

参考文献

- [1] 肖经难, 谢丹, 祁开泽. 六味地黄丸对兔骨关节炎软骨细胞凋亡的影响[J]. 湖南中医学院学报, 2003, 23(5): 11.
Xiao JN, Xie D, Qi KZ. Liuwei Dihuang pill is the impact of osteoarthritis in rabbit chondrocyte apoptosis[J]. Hu Nan Zhong Yi

Xue Yuan Xue Bao, 2003, 23 (5): 11. Chinese.

[2] 何健. 六味地黄汤加味治疗强直性脊柱炎的临床研究[J]. 临床医学工程, 2011, 18(3): 420-421.

He J. *Liuwei Dihuang* decoction treatment of ankylosing spondylitis in clinical research[J]. *Lin Chuang Yi Xue Gong Cheng*, 2011, 18 (3): 420-421. Chinese.

[3] 张宏波, 李程洋. 六味地黄丸对原发性疏松症(肾阴虚型)骨密度影响的临床观察[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2011, 19(6): 18-20.

Zhang HB, Li CY. *Liuwei Dihuang* pill primary osteoporosis (kidney), bone mineral density of the clinical observation[J]. *Zhongguo Zhong Yi Gu Shang Ke Za Zhi*, 2011, 19(6): 18-20. Chinese.

[4] Huang XF, Zeng XL. An animal model of osteocompression in mandible[J]. *Chin J Dent Res*, 2006, 9(2): 25-28.

[5] Song K, Yang Z, Liu T, et al. Fabrication and detection of tissue-engineered bones with bio-derived scaffolds in a rotating bioreactor [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2006, 45(Pt2): 65-74.

[6] 李菲菲, 丁寅, 冯雪, 等. 机械牵张应力刺激成骨细胞的差异蛋白质组学研究[J]. 医用生物力学, 2010, 25(6): 406-411.

Li FF, Ding Y, Feng X, et al. Mechanical stretch stress stimulate osteoblast differential proteomics[J]. *Yi Yong Sheng Wu Li Xue*, 2010, 25(6): 406-411. Chinese.

[7] Brown JP, Delmas PD, Malaval L, et al. Serum bone Gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis [J]. *Lancet*, 1984, 1(8386): 1091-1903.

[8] 胡静, 皱淑娟, 高占巍, 等. 机械牵张对人成骨细胞 ALP 活性及 I 型胶原表达的影响[J]. 口腔颌面外科杂志, 2003, 13(1): 11-14.

Hu J, Zhou SJ, Gao ZW, et al. Mechanical stretch into bone ALP activity and type I collagen expression[J]. *Kou Qiang He Mian Wai Ke Za Zhi*, 2003, 13(1): 11-14. Chinese.

[9] 唐丽灵, 王远亮, 谷俐, 等. 不同应变水平拉伸对成骨细胞生理功能的影响[J]. 重庆大学学报, 2003, 26(3): 67.

Tang LL, Wang YL, Gu L, et al. Different strain level stretch of the physiological function of osteoblasts[J]. *Chong Qing Da Xue Xue Bao*, 2003, 26(3): 67. Chinese.

(收稿日期: 2012-07-16 本文编辑: 连智华)

· 病例报告 ·

化脓性胸椎炎伴硬膜外脓肿突发截瘫 1 例

王刚祥, 徐宏宇, 竺湘江, 王, 王志刚, 周海东
(嵊州人民医院骨科, 浙江 嵊州 312400)

关键词 胸椎; 化脓; 炎症; 硬膜外脓肿; 截瘫

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2013.02.016

Sudden paralysis caused by pyogenic vertebral osteomyelitis with epidural abscess infected by MRSA: one case report

WANG Gang-xiang, XU Hong-yu, ZHU Xiang-jiang, WANG Yun, WANG Zhi-gang, and ZHOU Hai-dong. Department of Orthopaedics, Pepole's Hospital of Shengzhou, Shengzhou 312400, Zhejiang, China

KEYWORDS Thoracic vertebrae; Suppuration; Inflammation; Epidural abscess; Paralysis

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2013, 26(2): 146-148 www.zggszz.com

患者,女,70岁,因“腰背痛伴发热 40 d,加重 7 d”入院。40 d 前出现高热、咳嗽、咳痰,无胸痛,有腰背部持续性酸痛,休息后无缓解,下肢无麻木、疼痛感,活动可。胸部 CT 示:肺部感染。X 线片检查示:T₁₂ 椎体楔形改变(见图 1a)。诊断为“T₁₂ 压缩性椎体骨折和肺部感染”,予头孢曲松针静滴,口服骨化三醇片,体温在 38.0~38.5 ℃,咳嗽、咳痰减少,腰背痛未见明显缓解。出院后继续口服骨化三醇片和阿奇霉素片。

7 d 前腰背痛加重,夜间无缓解,伴臀部及双侧大腿酸痛不适,行走不稳,双侧大腿麻木,活动可。遂来本院骨科门诊,查体:体温 38.6 ℃,两肺呼吸音稍粗,腹部及背部皮肤可见多处暗红色丘疹,腰背部轻度后凸畸形,T₁₂ 棘突有压痛,扣击痛阳性,腰背部活动障碍,骶髂关节无明显压痛,腹股沟中点压痛阴性,大转子扣击痛阴性,双侧大腿区浅感觉减退,下肢活

动正常,直腿抬高试验阴性,“4”字试验阴性,托马斯征阴性,双足第 1 趾可触及花生米大小肿块,局部皮肤发红、质硬,无压痛,边缘清。既往有痛风病史 4 年余,未系统治疗,45 d 前因服用“别嘌吟”发生“多发性药疹”,使用“甲基强的松龙针”后缓解;血糖轻度偏高 6 年,未治疗;高血压病 15 年,口服硝苯地平缓释片,血压控制可;入院前 2 个月摔伤有腰背部疼痛,未予摄片检查。入院诊断:①T₁₂ 椎体压缩性骨折;②肺部感染;③高血压病;④ II 型糖尿病;⑤痛风。

入院后平卧休息,予头孢地嗪针治疗肺部感染,继续口服骨化三醇和肌肉注射降钙素,腰背痛、臀部及双侧大腿酸痛无明显改善。血常规提示:白细胞 19.31×10⁹/L,中性粒细胞 88.74%,血红蛋白 102 g/L,血沉 101 mm/h,C-反应蛋白 106 mg/L。血培养提示有金黄色葡萄球菌,万古霉素敏感,MRSA 阳性。考虑为 T₁₁、T₁₂ 化脓性胸椎炎。改用万古霉素针 50 U 静脉滴注,12 h 1 次。10 d 后体温恢复正常,腰背部及大

通讯作者:王刚祥 E-mai: wolfgangjohn@163.com