

# 兔颈椎终板胶原结构变化对运动节段力学性能的影响

应航<sup>1</sup> 詹红生<sup>1</sup> 井夫杰<sup>1</sup> 熊爱民<sup>1</sup> 吕荣坤<sup>2</sup>  
(1. 浙江中医学院, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江大学)

**【摘要】** 目的 通过测定兔退变颈椎运动节段力学参数的改变, 观测其软骨终板胶原的超微结构变化, 为退变的椎间盘显现异常力学特性作材料结构上的探讨。方法 将 24 只家兔随机分为对照组和模型组, 模型组家兔保持 45° 低屈曲位 5 h/d, 取 C<sub>5,6</sub>、C<sub>6,7</sub> 进行生物力学测定, 同时电镜观察终板胶原组织结构改变, 总结分析终板材料的结构变化对运动节段力学性能的影响。结果 模型组终板抗扭强度、抗压强度、断裂时的最大变形都低于对照组, 胶原排列从有序、致密、规整到紊乱、松散、溶解, 并随造模进程的深入而加剧。结论 长时间的应力不均状态, 造成椎间盘终板材料力学特性改变; 终板胶原结构改变是颈椎间盘生物力学性能减退的原因之一。

**【关键词】** 颈椎; 生物力学; 动物, 实验

**The effect of the changes of collagen texture of rabbit's cervical cartilaginous endplate on biomechanical properties of the cervical segmental motion** YING Hang, ZHAN Hongsheng, JING Fujie, et al. The Zhejiang College of TCM (Zhejiang Hangzhou, 310053, China)

**【Abstract】 Objective** To probe the material texture base for abnormal biomechanical properties on the cervical segmental motion by measuring biomechanical parameters and observing the changes of collagen texture, under ultramicroscope **Methods** 24 rabbits were divided randomly into the model group and the control. The model rabbits were kept lower flexion at 45° for 5 h/d, the parts of C<sub>5,6</sub>、C<sub>6,7</sub> were selected to determine the biomechanical properties of motion and observe the collagen texture. The relations between the changes of biomechanical properties of segmental motion and the changes of collagen texture were summarized. **Results** The significant decrease of anti-twisting, anti-compressive strength and largest deformation in end-plate were showed in the model group; the shape of collagen texture was changed from systematical, compact, regular to disorder, inattentive, dissolved and turning worres along with the developing of model-making. **Conclusion** The material mechanical changes of cartilaginous endplate can be induced by abnormal stress in a long period of time; the changes of collagen texture might be the one of the pathogeneses of intervertebral disc degeneration.

**【Key words】** Cervical vertebrae; Biomechanics; Animals, laboratory

颈椎软骨终板退变是椎间盘退变的启动和促进因素, 其发生主要与颈椎间盘长时间处于异常应力环境或累计承受应力峰值的总数过大有关<sup>[1]</sup>。颈椎终板在颈部正常生理活动中发挥着缓冲及吸振、承载及传递外力的功能, 承受着压、拉、剪切应力<sup>[2]</sup>, 而软骨终板中胶原约占其干重的 66%<sup>[3]</sup>, 因此胶原的质和量是维持力学强度的重要因素。通过透射电镜观测终板胶原组织超微结构的变化, 为退变的椎间盘显现异常力学特性作一材料结构上的探讨。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物与分组** 24 只清洁级日本大耳白家兔, 由浙江中医学院实验动物中心提供, 按体重编号, 随机分为对照组和模型组。模型组 ( $n = 12$ ): 把家兔屈颈 45° 固定于特制架上, 连续 5 h/d, 后松开任其自由活动。分别于造模开始后 1 月、2 月、3 月各处死 4 只, 分别为 1 月、2 月、3 月模型组。正常对照组 ( $n = 12$ ): 除颈部可自由活动外, 固定时间和固定方式同模型组。于 1 月、2 月、3 月各处死 4 只, 分别为 1 月、2 月、3 月对照组。

**1.2 力学观察指标与方法** 实验到期后, 耳缘静脉

气体栓塞处死动物,完整取下 C<sub>5,6</sub>椎间盘(包括上下软骨终板、髓核、纤维环);同时取下 C<sub>6,7</sub>完整的运动节段,剔除周围肌肉,切断棘上韧带、棘间韧带,断开关节突的连接,保留前纵韧带、后纵韧带及椎间盘,迅速置于 -180℃ 冰箱,待用。实验前取出标本,室温环境解冻, YJR-5 型静态电阻应变仪(浙江奉化电子仪器厂)及合作研制的微扭矩传感器,记录 C<sub>6,7</sub>的 M-φ 扭转特性曲线,比较单位面积(终板表面近似为椭圆)上的断裂强度,观察断裂时的损伤类型;用 WDS-100 型电子万能试验机(济南实验机厂)对 C<sub>5,6</sub>椎间盘描记压缩特性曲线,比较分析抗压强度、破坏时的最大形变值。

**1.3 主要试剂与仪器** 25% 戊二醛水溶液、乙二胺四乙酸二钠、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠, 国产; LKB-700Å 超薄切片机, 瑞典; H-500 透射电镜, 日本。

**1.4 透射电镜标本制作及观察** 参照文献<sup>[4]</sup>, 每一实验周期, 从各组中随机选取 1 只家兔处死, 取出 C<sub>6,7</sub>椎间盘的下软骨终板, 投入 4℃ 的 2.5% 戊二醛磷酸缓冲液中固定, PBS 漂洗, 10% EDTA-2Na 溶液脱钙, 修掉软骨终板四周, 保留中央部位, 用 1% 锇酸 PBS 固定液固定, 乙醇梯度脱水, 超薄切片机切片, 透射电镜观察。

**1.5 统计方法** 所得结果, 用均数 ± 标准差表示, 用 SPSS8.0 统计软件处理, 两样本之间 *t* 检验, 多样本之间用方差分析, 双侧 *P* < 0.05 为显著性差异。

**2 结果**

**2.1 颈椎运动节段的扭转力学特性** 对照组兔颈椎运动节段单位面积抗扭强度无明显变化; 1 月模型组抗扭强度略高于对照组, 后随造模进程的深入而逐渐下降, 尤 2 月为显著; 在 2 月、3 月实验周期, 模型组抗扭强度明显低于对照组 *P* < 0.05(见图 1)。

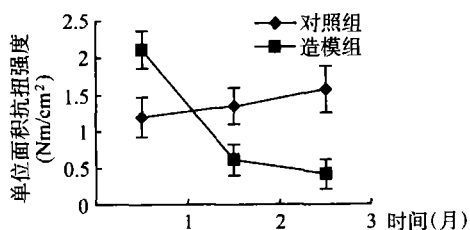


图 1 脊柱运动节段抗扭强度比较

**2.2 颈椎运动节段的扭转损伤形态比较** 对照组的断裂部位均出现在上椎体的下软骨下骨与软骨终板之间, 为光滑撕脱(见图 2); 而模型组断裂部位则一致地出现在上椎体的下软骨终板, 软骨终板分别

被斜、纵、横型撕裂(见图 3)。

**2.3 颈椎间盘压缩力学特性** 无论造模组或对照组, 压缩破坏部位均出现于软骨终板。随着家兔的自然增龄同时造模进程的深入, 1 月实验周期, 对照组与造模组的抗压强度、断裂时最大形变几乎无差异, 但到 2 月、3 月时, 对照组和模型组家兔颈椎间盘抗压强度均有不同程度的减小, 但造模组较对照组显著(*P* < 0.05, 见图 4)。

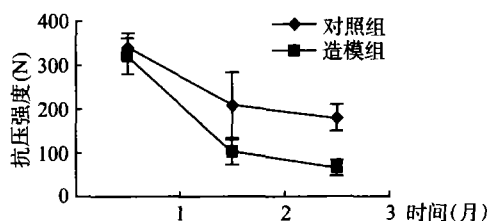


图 4 颈椎间盘抗压强度比较

对照组家兔颈椎终板断裂时的最大形变与时间无明显关系, 而模型组则随着时间的延长, 表现最大形变的减小(见图 5)。

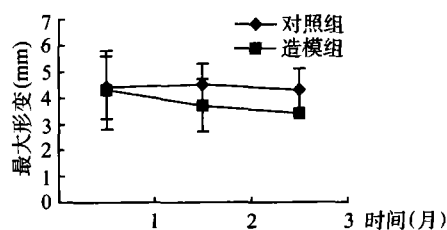


图 5 椎间盘断裂最大形态比较

**2.4 软骨终板胶原纤维的超微结构观察** 正常对照组: 胶原纤维排列紧密整齐, 1 月、2 月、3 月各组未见明显差异(见图 6-8)。模型组: 1 月模型组, 胶原纤维排列基本规整, 仅有少量胶原排列不整(见图 9)。2 月模型组: 胶原纤维排列异常紊乱, 松散(见图 10)。3 月模型组: 胶原纤维排列极不规整, 甚为松散, 出现大量胶原溶解(见图 11)。

**3 讨论**

I、II 型胶原是椎间盘中的主要纤维性胶原, 纤维环外层以 I 型胶原为主, 由外向内 I 型胶原逐渐减少, II 型胶原逐渐增多, 靠近髓核以 II 型胶原为主, 髓核、终板中 II 型胶原占主要部分。I 型胶原纤维较粗, 排列整齐紧密, 使纤维环具有可靠的张力和抗剪性能<sup>[5]</sup>; 有研究发现, I 型胶原的机械强度高于 II 型胶原, 胶原的含量与机械强度之间无相关性, 表明力学强度还与胶原类型、超微结构或其它成分有关<sup>[6]</sup>。Skaggs 等<sup>[6]</sup>认为退变椎间盘中, II 型胶

原的超微结构变化比纤维环中 I 型胶原严重,在椎间盘退变过程中纤维环胶原纤维仍可见相互平行的规律,彭宝淦等<sup>[1]</sup>认为软骨终板退变是椎间盘退变的启动因素,因此本实验选择软骨终板的胶原和终板超微结构作为观察指标。

对照组胶原纤维排列紧密整齐,材料保持良好的抗扭强度,断裂部位均出现在上椎体的下软骨下骨与软骨终板之间,为光滑撕脱,实验结果与陈晓亮等<sup>[7]</sup>椎间盘的超微结构研究结果非常一致:软骨终板胶原纤维与髓核和纤维环内 1/3 层的胶原纤维相连,却与软骨下骨的胶原纤维连接,此胶原结构上的缺陷正是软骨终板从椎体上分离的原因。模型组断裂部位则一致地出现在上椎体的下软骨终板,无一例出现于纤维环,支持了 Skaggs 的实验结果;随造模进程的深入,颈椎运动节段的扭转强度明显减小,损伤出现在软骨终板斜、纵、横型撕裂,同时电镜观察显示软骨终板胶原纤维的排列由整齐、紧密向紊乱无序、松散、大量胶原溶解发展,由于胶原纤维材料结构的改变,导致其机械性能的异常。

软骨终板 II 型胶原含有羟赖氨酸和糖链,亲水性强,加之纤维较细,成分散状态分布,其上附有蛋白多糖微粒,使之具有抗压能力、均匀传递应力能力,发挥缓冲、吸收应力的功能<sup>[4]</sup>。压缩力学实验显示,模型组软骨终板断裂时的抗压强度、断裂时的最大形变值均随时间而减小,此时的胶原纤维正处于排列不规、杂乱、含量下降状态,致使附于其上蛋白多糖微粒总量下降,导致硫酸软骨素/硫酸角质素比值、透明质酸下降(课题的另一部分结果),嗜水性能减弱,改变椎间盘基质内的固定电荷密度、水合状

态,使软骨终板这种固、水双相力学模型渗透性参数升高。受压时,水分易于流出,不能均匀传力,承载能力减退,这可能是导致材料应力集中、抗压性能下降的原因之一。

力学试验显示 1 月造模组抗扭、抗压、形变等力学参数不比对照组低,有的甚至略高,这一周期胶原的超微结构改变也不易观察,但随后均呈直线下降,这恰恰验证了 Wallf 定律,它阐述了生物材料的功能适应性理论:生物体的生长、加强需要一定的应力刺激,但若承受的应力值过大,或承受应力峰值的总数过多,反有吸收或萎缩。生物组织的生长、加强和再吸收的过程,是一受应力控制矛盾的过程,它提示我们适当的运动,减少异常应力或不良应力的积累作用时间,将有助于延缓颈椎间盘的退变和颈椎病的发生。

(本文图 2-3, 6-11 见后插页 1)

#### 参考文献

- 1 彭宝淦,施杞,沈培芝,等. 软骨终板钙化与椎间盘退变关系的研究. 中华外科杂志, 1999, 37(10): 613-615.
- 2 孟和,顾志华. 骨伤生物力学. 北京: 人民卫生出版社, 1991. 188-190.
- 3 胡有谷,吕振华,陈晓亮,等. 腰椎间盘细胞、胶原和弹性蛋白. 中华骨科杂志, 1997, 17(12): 8-10.
- 4 席越,王戈平,黄啸原,等. 骨组织病理解剖学技术. 北京: 人民卫生出版社, 1997. 52-54.
- 5 李书忠,陈培勋,胡有谷. 正常椎间盘胶原的研究. 生物化学杂志, 1993, 9(2): 184-189.
- 6 Skaggs DL, Weidenbaum M, Iatridis JC, et al. Regional variation in tensile properties and biochemical composition of the human lumbar annulus fibrosus. Spine, 1994, 19(12): 1370.
- 7 陈晓亮,胡有谷. 腰椎间盘的超微结构观察. 中华骨科杂志, 1990, 10(2): 138.

(收稿: 2002-10-22 修回: 2003-03-10 编辑: 李为农)

## 欢迎订阅 2004 年《中国骨伤》

《中国骨伤》杂志是中国中西医结合学会和中国中医研究院主办的国家级专业性学术期刊,是中国期刊方阵双奖期刊。本刊坚持中西医并重原则,突出中西医结合特色,执行理论与实践、普及与提高相结合的方针。主要报道中医、西医和中西医结合在骨伤科领域的科研成果、理论探讨和临床诊疗经验,反映我国骨伤科在医疗、科研工作中的新进展,以促进国内外骨伤科的学术交流。

本刊主要设有专家述评、论著、骨伤论坛(学术探讨)、生物力学研究、临床研究、影像分析、诊治失误、经验交流、文献综述、手法介绍、学习园地、科研思路与方法、临床病例报告、国内外骨伤科医学动态以及医学书刊评价等栏目。

本刊为月刊,每月 25 日出版,2004 年期刊内页采用全新的 80 g 亚光铜版纸,国际通用 16 开大版本,64 页,单价 8.80 元,全年价 105.60 元。国内外公开发售,全国各地邮局订阅,邮发代号: 82-393。如错过征订机会,本刊编辑部亦可代办补订(请直接汇款至编辑部),国内订户我们将负责免费邮寄。

编辑部地址: 北京东直门内南小街甲 16 号《中国骨伤》杂志编辑部 邮编: 100700

电话: (010)64014411-2693 传真: (010)64036581

http://www.corthoptrauma.com E-mail: zggszz@sina.com

# 兔颈椎终板胶原结构变化对运动节段力学性能的影响

(正文见 577 页)

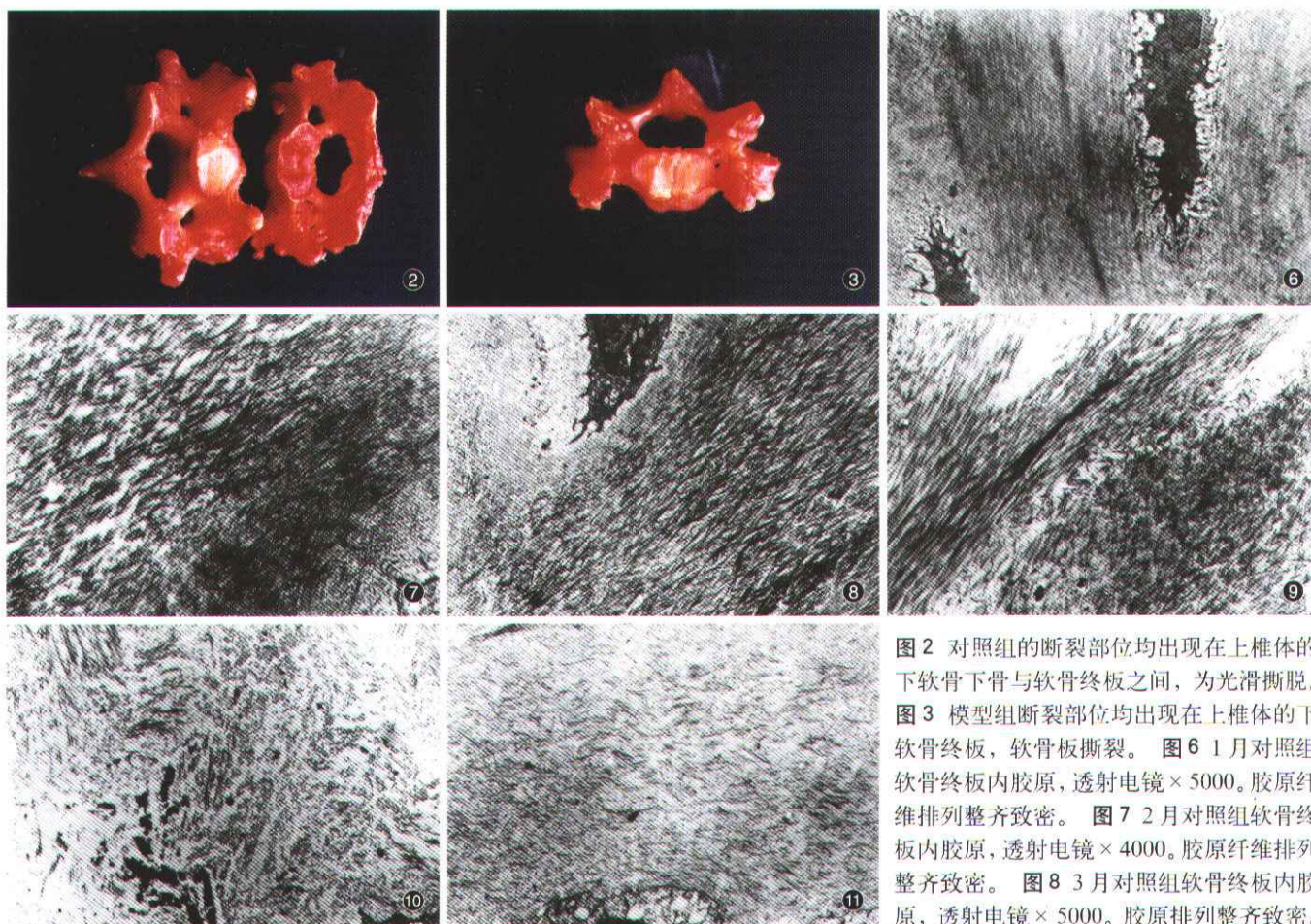


图2 对照组的断裂部位均出现在上椎体的下软骨下骨与软骨终板之间,为光滑撕脱。图3 模型组断裂部位均出现在上椎体的下软骨终板,软骨板撕裂。图6 1月对照组软骨终板内胶原,透射电镜×5000。胶原纤维排列整齐致密。图7 2月对照组软骨终板内胶原,透射电镜×4000。胶原纤维排列整齐致密。图8 3月对照组软骨终板内胶原,透射电镜×5000。胶原排列整齐致密。

图9 1月模型组软骨终板内胶原,透射电镜×4000。胶原纤维排列基本规整,有少量胶原纤维排列紊乱。图10 2月模型组软骨终板内胶原,透射电镜×4000。胶原纤维排列紊乱、松散。图11 3月模型组软骨终板内胶原,透射电镜×4000。胶原纤维排列紊乱、松散、溶解。

## bFGF 和 IGF 对体外培养骨髓基质干细胞增殖及分化的影响

(正文见 584 页)

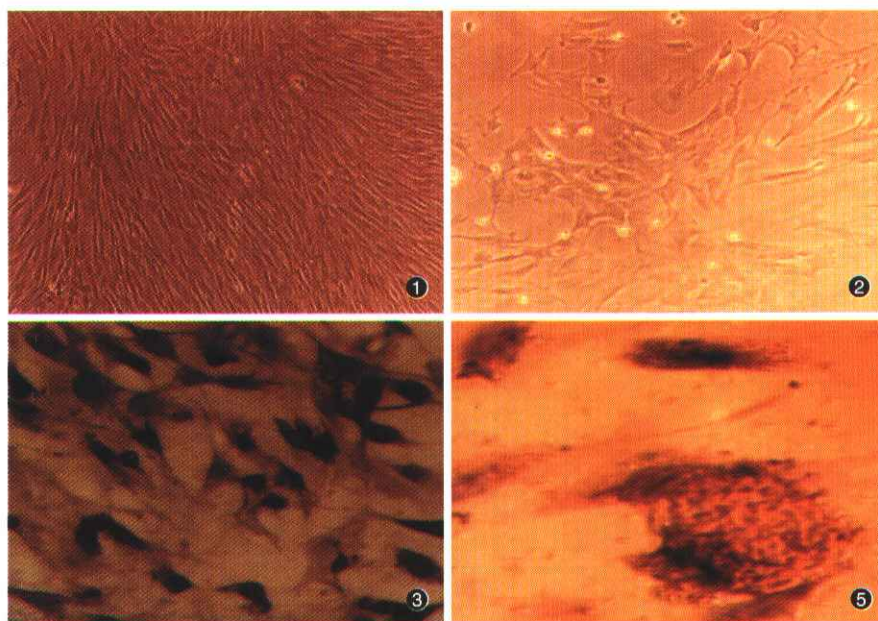


图1 重叠生长的第三代BMSc×100。图2 呈梭形、多边形、三角形及不规则形态的成骨细胞×100。图3 BMSc经改良钙钴法染色后,BMSc的胞浆中可见浅棕至棕黑色的细小颗粒。图5 BMSc传代培养6~8周可观察到形成钙结节。