

持续光照与松果体切除诱导大鼠脊柱侧凸动物模型的探讨

张网林¹ 陈 秋²

【摘要】 目的 应用持续光照以及松果体切除来抑制大鼠褪黑素水平,探讨单纯褪黑素降低在大鼠脊柱侧凸模型中的作用。**方法** 取生后 3 周的青春期(Sprague Dawley,SD)大鼠 50 只,随机分为 4 组。空白对照组 10 只,自然光照条件;二足对照组 10 只,双侧前肢及尾巴切断,自然光照条件;实验光照组 20 只,双侧前肢及尾巴切断,24 h 持续光照,照度控制在 300 lux;松果体切除组 10 只,双侧前肢及尾巴切断,手术切除松果体,自然光照条件。实验至第 12 周时,进行脊柱 X 线摄片,观察脊柱曲线,测量 Cobb 角,留取动物 2 Am 及 2 Pm 静脉血,测定血清褪黑素含量。**结果** (1)实验至第 12 周时,空白对照组、二足对照组以及实验光照组 X 线摄片均无脊柱侧凸的发生。松果体切除组中有 3 只出现脊柱侧凸,发生率为 33.3%,Cobb 角为 14°,21°和 28°,平均 21°。侧凸主弧方向为右侧 2 只,左侧 1 只。(2)空白对照组及二足对照组血清褪黑素水平呈现明显昼低夜高的节律性。实验光照组血清褪黑素呈现持续低水平且节律性消失。松果体切除组褪黑素水平改变与光照组类似。经统计学检验,空白对照组与二足对照组组内昼夜血清褪黑素水平明显不同,实验光照组与松果体切除组组内昼夜血清褪黑素水平比较,差异无统计学意义;空白对照组与二足对照组的夜间褪黑素水平与实验光照组及松果体切除组差异显著。**结论** (1)持续光照能够有效地抑制大鼠血清褪黑素水平,并使其丧失原有的节律性。(2)二足鼠松果体切除能够建立脊柱侧凸的动物模型。(3)该模型中侧凸的发生不是单纯低水平褪黑素的作用。

【关键词】 脊柱侧凸; 大鼠

Comparison of melatonin suppression on experimental scoliosis in rats by either constant light or surgical pinealectomy. ZHANG Wang-lin¹, CHEN Qiu². 1,The Pediatric Hospital of Fudan University, Shanghai,200032, China; 2,The Ningbo Sixth Hospital, Ningbo, 315000, China

【Abstract】 Objective To compare the effect of suppression of melatonin secretion by constant light in bipedal rats with that of surgical pinealectomy. And to discover whether suppression of melatonin secretion without surgery can result in scoliosis in mammals. **Methods** Fifty rats were separated into four groups: a quadrupedal control group (n=10) with no surgery performed; a bipedal control group (n=10) served as another control; a pinealectomy group(n=10) and a constant light group (n=20). The first three group were kept together in a 12-hour light-dark cycle,whereas the last group was separated with constant lighting conditions(>300lux). The last three groups were made bipedal rats by surgery. All rats were radiographed at the end of the experiment. Blood was taken during the middle of the light and dark cycles for serum melatonin assay using ELISA. **Results** Thirty-three percent of the pinealectomized bipedal rats suffered from scoliosis. None of the other three groups had scoliosis developed for up to 12 weeks. Measurements of serum melatonin levels of the constant light group confirm that secretion is suppressed. **Conclusions** Pinealectomy can reduce the secretion of melatonin and induce scoliosis in bipedal rats. Constant light could suppress the secretion of melatonin in rats serum, it did not induce scoliosis. The pathogenesis of rat's scoliosis might not be mediated by low-level melatonin.

【KeyWords】 Scoliosis; rats

作者单位:1, 复旦大学附属儿科医院小儿外科 (上海市,200032)
);2, 宁波市第六医院 (浙江省,315000), 通讯作者: 陈秋, E-mail:
chenqiu1960@sina.com

特发性脊柱侧凸 (idiopathic scoliosis, IS) 是儿童及青少年中较为常见的脊柱畸形之一。其病因学和发病机制的研究学说众多。近年来,神经内分泌方面的研究取得了重大的进展,松果体及褪黑素逐渐成为研究的热点。国内外以大鼠为对象通过松果体切除的作用建立脊柱侧凸动物模型报道并不多见,而通过持续光照的无创伤手段来探讨褪黑素与哺乳动物脊柱侧凸发病机理的研究尚未见报道 (Pubmed 检索至 2004 年末)。本文拟通过松果体切除的方法建立大鼠脊柱侧凸动物模型,并通过单纯持续光照抑制褪黑素分泌这一无创伤的方法,来探讨单纯的褪黑素降低能否引发大鼠脊柱侧凸。

材料与方法

一、实验动物

将出生后 3 周的 SD 大鼠 50 只 (复旦大学实验动物部提供),雌雄不限。随机分为 4 组:①空白对照组 10 只;②二足对照组 10 只;③实验光照组 20 只;④松果体切除组 10 只。动物室空调控制温度 25℃,给予充足的饲料及自由饮水,饲料为普通大鼠饲料。实验观察时间为 12 周。实验光照组置于 24 h 持续光照环境中 (光照度为 300 lux),其他动物均置于自然光照条件下。

二、二足鼠的建立

将出生后 3 周的 SD 大鼠以戊巴比妥 40 mg / kg 腹腔注射麻醉,在肱骨中上水平以丝线贯穿缝扎结扎动物双侧前肢,在尾巴根部同样以丝线贯穿缝扎结扎,于结扎线下约 0.3 cm 处剪断大鼠双侧前肢及尾巴。

三、松果体切除手术

将二足鼠麻醉 (方法同前),俯卧位,剪去头部绒毛,沿颅骨矢状缝旁开约 0.2 cm,自双眼连线水平至枕骨根部切开皮肤直至颅骨骨质部分,牵开两侧皮肤及皮下组织,此时动物的颅骨软而薄,透过颅骨可见矢状窦、横窦、窦汇,以克氏针于窦汇偏上方,轻柔钻开颅骨,形成直径约 3.0 ~ 5.0 mm 的颅骨孔,在此过程中以生理盐水冲洗钻孔处,以保持视野清晰。在 3 倍放大镜帮助下,尽量避开窦汇血管结构,以 22 G 针头,根据《大鼠脑立体定位图谱》及预先解剖脑部的动物为参照进行穿刺 (注意穿刺深度及角度),抽取组织送病理学检查,证实为松果体后,以棉签小心止血,不处理颅骨缺损,直接以无损伤线缝合皮肤。

万方数据

四、X 线检查

实验 12 周末在麻醉 (戊巴比妥 40 mg / kg 腹腔注射)下,进行脊柱后前位摄片。放置动物时注意动物的头部以及肢体的对称。脊柱侧凸的阳性诊断标准为 Cobb 角 > 10°。

五、血清标本的采集及保存

实验 12 周时,各组采用组内半数分别于 2Pm 或者 2Am 时采血 2ml。2Am 采血时,将动物于黑暗环境中迅速处死后立即进行采血。血液标本经离心 (3000rpm, 15min) 后留取血清约 0.5ml,于 -4℃ 冷冻保存。

六、褪黑素含量测定

用 ELISA 试剂盒 (德国 IBL 公司) 按照说明书进行血清褪黑素含量的测定。

七、统计学方法

采用独立样本 t 检验的方法分析各组内 2 Am 及 2 Pm 血清褪黑素水平,采用单因素方差分析最小差别检验法分析各组动物 2 Am 时血清褪黑素浓度,以统计学软件 SPSS 10.0 进行统计学处理。

结果

一、脊柱畸形发生情况

空白对照组及二足对照组动物中均没有明显的脊柱改变。松果体切除组中有 3 例发现脊柱侧凸 (发生率为 33.3 %),侧凸情况见表 1。

表 1 松果体切除组大鼠脊柱侧凸出现情况

| 编号 | 主弧方向 | 累及节段 | cobb 角 |
|----|------|------|--------|
| 3 | 右 | 胸腰段 | 14° |
| 7 | 左 | 胸腰段 | 28° |
| 8 | 右 | 胸腰段 | 21° |

二、血清褪黑素水平及其统计学分析

空白对照组及二足对照组动物 (即正常光照的动物) 的血清褪黑素浓度均呈现明显昼低夜高的节律性。持续光照组及松果体切除组动物的血清褪黑素浓度均低于对照组,并且丧失昼低夜高的节律见图 1。

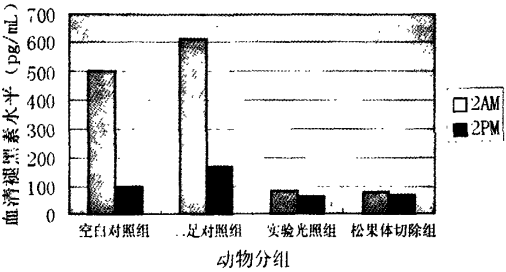


图 1 实验动物血清褪黑素水平示意图

以独立样本 t 检验的方法对各组内 2 Am 及 2 Pm 血清褪黑素水平进行统计学分析, 结果显示空白对照组及二足对照组血清褪黑素水平在 2 Am 与 2 Pm 时点差异有统计学意义; 而实验光照组与松果体切除组血清褪黑素水平在 2 Am 与 2 Pm 时点差异无统计学意义(见表 2)。空白对照组及二足对照组血清褪黑素水平呈现明显的昼低夜高的节律性, 而实验光照组及松果体切除组血清褪黑素水平无节律性。

表 2 各组动物 2 Am 与 2 Pm 时血清褪黑素水平 (pg/ml)

| 编号 | 分组 | 采血时点 | 均数 | SD | P 值 |
|----|--------|------|--------|--------|-------|
| 1 | 空白对照组 | 2Am | 503.90 | 195.86 | 0.013 |
| 2 | | 2Pm | 97.94 | 57.85 | |
| 3 | 二足对照组 | 2Am | 616.53 | 348.77 | 0.020 |
| 4 | | 2Pm | 169.12 | 44.11 | |
| 5 | 实验光照组 | 2Am | 80.59 | 53.49 | 0.439 |
| 6 | | 2Pm | 62.39 | 72.93 | |
| 7 | 松果体切除组 | 2Am | 78.25 | 22.33 | 0.063 |
| 8 | | 2Pm | 66.60 | 73.94 | |

以单因素方差分析最小差别检验法进行各组动物 2 Am 时血清褪黑素浓度之间的统计学分析(即表 2 中编号为 1, 3, 5, 7 的各组之间进行两两比较)。结果显示, 空白对照组 2 Am 时血清褪黑素水平与二足对照组无显著差异, 而与其他两组比较, 差别明显; 二足对照组动物 2 Am 时血清褪黑素水平与实验光照组及松果体切除组动物差别明显; 实验光照组动物 2 Am 时血清褪黑素水平与松果体切除组动物无显著差别, 见表 3。

表 3 各组动物 2Am 时血清褪黑素水平比较

| 参照组编号 | 对比组编号 | P 值 |
|-------|-------|-------|
| 1 | 3 | 0.329 |
| | 5 | 0.000 |
| | 7 | 0.001 |
| 3 | 1 | 0.329 |
| | 5 | 0.000 |
| | 7 | 0.000 |
| 5 | 1 | 0.000 |
| | 3 | 0.000 |
| | 7 | 0.981 |
| 7 | 1 | 0.001 |
| | 3 | 0.000 |
| | 5 | 0.981 |

注: $P < 0.01$ 为差异有显著统计学意义, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义

讨 论

国内外学者进行了大量以鸡为实验对象, 通过松果体切除获得脊柱侧凸动物模型的实验, 从而获得了有关脊柱侧凸病因病理学方面的实验资料。但是, 鸡作为禽类动物, 在种系上与人类相距较远, 因此, 本文选用大鼠作为实验动物。通过对二足鼠进行松果体切除, 而诱导实验鼠一部分发生了脊柱侧凸, 发生率为 33.3 % (3/9)。

Necas 等^[1]于 1999 年报道了在四足鼠中行松果体切除手术后有 22.7 % (5/22) 的动物发生了脊柱侧凸 (Cobb 角 $> 8^\circ$ 为脊柱侧凸诊断标准)。Machida 等^[2]报道了在双侧前肢切断的二足鼠中进行松果体切除, 100 % (20/20) 的大鼠都发生了脊柱侧凸。O'Kelly 等^[3]却报道了四足鼠中松果体切除术后无脊柱侧凸发生的结果 (0/32)。

这种差异可能来自四足动物与二足动物脊柱生物力学方面的不同: O'Kelly 以及 Necas 的研究对象都是四肢活动的大鼠。从生物力学的角度来说, 四足状态下脊柱的受力情况与二足直立状态是不同的。相关研究证实, 人类脊柱直立状态下的重力作用对于脊柱侧凸的发生具有十分重要的作用^[4]。与四足的正常大鼠相比, 二足鼠在脊柱受到重力作用的模式上更加接近于人类, 可能正是这种生物力学方面的差异导致二足鼠与四足鼠脊柱侧凸发生率的不同。从本文结果来看, 二足对照组褪黑素基本保持在生理水平, 而没有出现任何脊柱侧凸的畸形。因此, 单纯的二足状态可能参与了脊柱侧凸的发生发展, 但不足以单独诱发脊柱侧凸。

另一方面, 同样以二足大鼠为实验对象进行松果体切除手术, 本实验的侧凸发生率为 33.3 %, 远远低于 Machida 等^[2]报道的 100 % (20/20)。这种差异可能与作者对于松果体切除手术的掌握程度有关。但是, 从褪黑素测定结果来看, 松果体切除组动物血清褪黑素水平明显低于对照组, 且不具备原有的昼夜节律性。从而证实本组达到了预期效果。

本实验中二足大鼠的褪黑素水平都降低了, 但并不是每一只都发生了脊柱侧凸。那么松果体切除、褪黑素缺乏及脊柱侧凸发生之间的联系如何? Machida 等^[2]的实验同时发现通过褪黑素控释片的植入能够降低脊柱侧凸的发生率。这似乎提示着褪黑素在该动物模型中的决定性作用。

但是, Machida 的实验没有测定松果体切除组

以及褪黑素治疗组动物的血清褪黑素水平,只有褪黑素治疗后没有发生脊柱侧凸的动物的褪黑素水平明显高于发生侧凸的动物才能证明褪黑素在该动物模型中的决定性作用。

本组结果中,松果体切除后的动物 100 % 发生了褪黑素水平的降低,但只有 33.3 % 的动物发生了脊柱侧凸,因此,褪黑素的缺乏与脊柱侧凸的发生一样是松果体切除的结果,而褪黑素缺乏与脊柱侧凸的发生之间的直接因果关系尚不明确。

近年来,学者们发现,动物体内褪黑素水平呈现明显的昼夜节律性以及季节性的波动,体内褪黑素水平受到光照的抑制而降低。而 Martinez-Soriano 等^[4]的研究更加从大鼠松果体细胞的超微结构方面证明了血清褪黑素水平与光照的关系。

许多学者^[5]都通过对鸡血清褪黑素的测定证实了持续光照能够有效抑制血清褪黑素水平,甚至提出,持续光照能够达到生理性切除松果体的效果。

本组中二足大鼠的持续光照实验中也证实持续光照后褪黑素水平明显降低,且降低程度与松果体切除后的褪黑素水平接近。但是,二足大鼠通过松果体切除能够诱导脊柱侧凸的发生,而同样的二足大鼠在持续光照条件下虽然褪黑素水平降低了,却没有出现脊柱侧凸。

由此可见,单纯持续光照的确能够像松果体切除一样有效降低大鼠血清褪黑素水平,并使其丧失原有的节律性,但是它并不能像松果体切除一样在二足大鼠中诱发脊柱侧凸。因此这种单纯褪黑素缺乏不足以引发大鼠脊柱侧凸发生的现象提示,褪黑素以外的因素可能起到了一定的作用。

褪黑素受体是近年来人们研究褪黑素以外的因素的热点。许多学者通过中枢神经系统中的相关研究证实了褪黑素受体的存在,并提出褪黑素受体的功能异常和(或)其后的信号传导异常可能是引起脊柱畸形的重要原因^[6,7]。

此外,褪黑素与生长激素以及 5-羟色胺等的关系也被引入来解释褪黑素与脊柱侧凸的发生之间的关系^[8,9],但有待进一步实验和观察证实。


综上所述,褪黑素以及褪黑素以外的某些物质参与组成了某种效应系统,通过系统内的平衡调节来实现脊柱的平衡生长,持续光照仅仅改变了

褪黑素水平或者只改变了系统中的某个或者几个因素,而并没有打破这一系统的平衡,因此没有发生脊柱侧凸。但是松果体切除组动物因为褪黑素水平降低以及其他因素的共同作用加速了平衡的破坏而发生了脊柱侧凸,也就是说褪黑素水平变化在脊柱侧凸的发生中可能始终存在,是褪黑素以外的其它因素的参与加速了这个过程。当然,对此问题的研究还有待进一步深入。

参 考 文 献

- 1 Necas A., M. Dvorák: Development of the Spine Following Pinealectomy in Growing Rats [J]. Acta Vet Brno, 1999, 68: 31-39.
- 2 Machida M, Murai L, Miyathita Y, et al. Pathogenesis of idiopathic scoliosis [J]. Spine, 1999, 24 (19):1985-1989.
- 3 O'Kelly C, Wang X, Raso J, et al. The production of scoliosis after pinealectomy in young chicken, rats, and hamsters[J]. Spine, 1999, 24(1):35-43.
- 4 Martinez-Soriano F, Ruiz-Torner A, Armananzas E, Valverde-Navarro AA. Influence of light/dark, seasonal and lunar cycles on serum melatonin levels and synaptic bodies number of the pineal gland of the rat[J]. Histo Histopathol, 2002, 17(1):213-222.
- 5 Cheung KM, Lu DS, Poon AM, et al. Effect of melatonin suppression on scoliosis development of scoliosis in chickens by either constant light or surgical pinealectomy [J]. Spine, 2003, 28 (17):1741-1944.
- 6 Wan Q, Pang SF. Segmental, Coronal, and subcellular distribution of 2-[125I] iodomelatonin binding sites in the chicken spinal cord[J]. Neurosci Lett, 1994, 180:253-256.
- 7 Sobajima S, Kin A, Baba I, et al. Implication for melatonin and its receptor in the spinal deformities of Hereditary Lordoscoliotic Rabbits[J]. Spine, 2003, 28(6): 554-558.
- 8 Hilibrand AS, Blakemore LC, Loder RT, et al. The role of melatonin in the pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis[J]. Spine, 1996, 21(10):1140-1146
- 9 Porter RW. The pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis: uncoupled neuro-osseous growth? [J]. Eur Spine J, 2001, 10 (6):473-489.

持续光照与松果体切除诱导大鼠脊柱侧凸动物模型的探讨

作者: 张网林, 陈秋, ZHANG Wang-lin, CHEN Qiu
作者单位: 张网林, ZHANG Wang-lin(复旦大学附属儿科医院小儿外科, 上海市, 200032), 陈秋, CHEN Qiu(宁波市第六医院, 浙江省, 315000)
刊名: 临床小儿外科杂志 
英文刊名: JOURNAL OF CLINICAL PEDIATRIC SURGERY
年, 卷(期): 2008, 7(2)
被引用次数: 0次

参考文献(9条)

1. Porter RW [The pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis: uncoupled neuro-osseous growth?](#) 2001(06)
2. Hilibrand AS; Blakemore LC; Loder RT [The role of melatonin in the pathogenesis of adolescent idiopathic scoliosis](#) 1996(10)
3. Sobajima S; Kin A; Baba I [Implication for melatonin and its receptor in the spinal deformities of Hereditary Lordoscoliotic Rabbits](#) 2003(06)
4. Wan Q; Pang SF [Segmental, Coronal, and subcellular distribution of 2-\[125I\] iodomelatonin binding sites in the chicken spinal cord](#) 1994
5. Cheung KM; Lu DS; Pooh AM [Effect of melatonin suppression on scoliosis development of scoliosis in chickens by either constant light or surgical pinealectomy](#) 2003(17)
6. Martinez-Soriano F; Ruiz-Torner A; Armananzas E; Valverde -Navarro AA [Influence of light/dark, seasonal and lunar cycles on serum melatonin levels and synaptic bodies number of the pineal gland of the rat](#) 2002(01)
7. O' Kelly C; Wang X; Raso J [The production of scoliosis after pinealectomy in young chicken, rats, and hamsters](#) 1999(01)
8. Machida M; Mural L; Miyathita Y [Pathogenesis of idiopathic scoliosis](#) 1999(19)
9. Necas A; M. Dvorák [Development of the Spine Following Pinealectomy in Growing Rats](#) 1999

相似文献(10条)

1. 期刊论文 马晓生, 吕飞舟, 吴俊哲, 陈誉, 接健, 马天文, 张权, 姜建元 [应用 luzindole 建立双足大鼠脊柱侧凸模型 - 中国脊柱脊髓杂志](#) 2009, 19(10)
目的: 探讨应用褪黑素拮抗剂 luzindole 建立双足大鼠脊柱侧凸模型的可行性. 方法: 健康刚断乳 SD 大鼠 30 只, 随机分为 A、B、C、D、E 共 5 组. 每组 6 只. A、B、C、D 四组通过截去双前肢和尾巴建立双足大鼠模型, A、B、C 三组每天 18:00~20:00 点腹腔注射褪黑素拮抗剂 luzindole, 剂量分别为 0.2mg/kg、0.5mg/kg、1mg/kg; D 组每天相同时间腹腔注射同体积的生理盐水; E 组作为空白对照组. 观察 3 个月, 每只大鼠每天称重, 每隔 1 个月摄脊柱全长正位 X 线片, 观察各组大鼠体重变化及侧凸发生情况. 结果: A、B、C 三组共有 7 只大鼠发生了脊柱侧凸, 发生率为 38.9%, 其中 A 组有 3 只发生了脊柱侧凸, Cobb 角为 29°~34°, 较 B、C 两组显著 (P<0.05); D、E 两组均未发生脊柱侧凸. 不同时间点 5 组大鼠体重均有增加, 体重增加最多的是注射褪黑素拮抗剂剂量最大的 C 组. 结论: 对双足大鼠使用 0.2mg/kg 褪黑素拮抗剂 luzindole 能成功建立脊柱侧凸模型; 并且可促进大鼠的生长.
2. 学位论文 张网林 [持续光照抑制褪黑素与松果体切除在大鼠脊柱侧凸动物模型中作用的比较](#) 2005
目的: 应用持续光照以及松果体切除来抑制大鼠褪黑素水平, 探讨单纯褪黑素降低在大鼠脊柱侧凸模型中的作用.
方法: 生后 3 周的 SD 大鼠 50 只, 随机分为 4 组. (1) 空白对照组 10 只, 未进行任何处理, 自然光照条件 (基本为白天 12 小时光照, 夜晚 12 小时黑暗). (2) 二足对照组 10 只, 双侧前肢及尾巴切断, 自然光照条件同第一组. (3) 实验光照组 (持续光照) 20 只, 双侧前肢及尾巴切断, 光照条件为 24 小时持续光照, 照度控制在 300lux. (4) 松果体切除组 10 只, 双侧前肢及尾巴切断, 手术切除松果体, 光照条件同第一、二组. 实验第 12 周时, 进行脊柱 X 线摄片, 观察脊柱曲线, 测量 Cobb 角, 留取动物 2Am 及 2Pm 的静脉血, 以 ELISA 试剂盒测定血清褪黑素含量.
结论: (1) 持续光照能够有效地抑制大鼠的血清褪黑素水平, 并使其丧失原有的节律性. (2) 二足松果体切除能够建立脊柱侧凸的动物模型. (3) 该模型中侧凸的发生不是单纯低水平褪黑素的作用.
3. 期刊论文 沈慧勇, 刘尚礼, 何杰民, SHEN Hui-yong, LIU Shang-li, HE Jie-min [脊柱侧凸旋转畸形矫正的实验研究 - 中国脊柱脊髓杂志](#) 2000, 10(4)
目的: 研究旋转畸形矫正对脊柱侧凸手术中的意义、矫正中脊髓的耐受程度以及 MEP 监测的作用. 方法: 制作 4 组 (每组 10 只) 大鼠脊柱侧凸模型, MEP 监测下矫正旋转. A 组矫正 50%, 固定 12h; B 组矫正 100%, 固定 12h; C 组矫正至 MEP 潜伏期延长 10%, 即松开固定; D 组矫正至潜伏期延长 10% 后继续固定 12h. 结果: A 组

及C组神经功能正常;B组2只神经损伤, 脊柱侧凸随旋转的矫正也基本矫正;D组4只神经损伤, 24h后1只恢复. 结论: 旋转畸形矫正正在脊柱侧凸手术中起着重要的作用; 在SD大鼠, 旋转矫正50%是一个临界值; MEP是旋转矫正中可靠的监测方法.

4. 学位论文 [王亨 双足鼠脊柱侧凸动物模型的建立及椎体生长板软骨细胞凋亡的表达](#) 2006

研究背景特发性脊柱侧凸(Idiopathic Scoliosis, 以下简称IS)是儿童和青少年最常见的脊椎畸形, 其病因仍然不清楚. 虽然近年来的研究发现了许多可能的致病因素, 如基因遗传因素、生长发育因素、激素的影响、结缔组织病变、肌肉系统的异常、神经系统因素、褪黑素的作用以及血小板的因素等等, 但至今国内外对IS的病因认识仍处于朦胧阶段. 所以目前还难从病因角度上去预防和治疗.

动物模型是病因学研究的重要方法. 自从Thillard等[1]报道松果体切除可以在小鸡中诱发出脊柱侧凸的动物模型后, 学者们对松果体以及其分泌的激素—褪黑素在IS中的作用进行了广泛的研究, 试图通过褪黑素揭示IS的病因. 近年来, Machida等又报道了松果体切除可以在双足鼠中诱发出脊柱侧凸[2-6], 但此模型侧凸发生机理以及在IS病因研究中的作用还需要进一步研究.

另外, IS是一种与生长相关的疾病, 只要患者存在生长潜能, 侧凸就有进一步加重的危险. 而与脊柱生长最直接的相关因素就是椎体的生长板软骨. 对于椎体生长板软骨在侧凸发生、发展中作用的研究目前还比较少, 而且也面临着在IS病人中取材的困难. 本研究试图通过对侧凸动物模型椎体生长板软骨的研究探讨人类IS的病因, 并提出IS病因学假说.

研究目的验证松果体切除是否能在双足鼠中诱发出脊柱侧凸动物模型并对此模型侧凸发生原因进行探讨. 研究该模型椎体生长板软骨细胞的凋亡以及Fas表达在侧凸发生、发展中的作用.

研究方法刚断乳的SD大鼠30只, 随机分为3组. 对照组10只, 不作任何处理. 双足鼠组10只, 截除双上肢, 制造双足鼠模型. 松果体切除的双足鼠组10只, 行双上肢截肢并行松果体切除. 3个月后观察这3组SD大鼠脊柱的改变. 然后通过TUNEL法检测SD大鼠椎体生长板软骨细胞的凋亡. 通过免疫组化和原位杂交检测生长板软骨细胞的Fas表达.

研究结果对照组和双足鼠组中没有脊柱侧凸的发生, 而松果体切除的10只双足鼠皆发生了脊柱侧凸, Cobb角17°~32°, 平均23.5°. 在侧凸顶椎的研究中发现, 发生侧凸的SD大鼠椎间盘存在楔形变. 在SD大鼠脑组织的检查中发现, 与对照组和双足鼠组相比, 松果体切除组术后脑组织存在明显的损伤. 与对照组相比, 双足鼠和松果体切除后双足鼠的生长板软骨的增殖状态受到抑制. 松果体切除后发生脊柱侧凸的SD大鼠凹侧生长板软骨细胞的凋亡指数较凸侧、双足鼠组以及对对照组明显增加. 免疫组化和原位杂交发现, 凋亡因子Fas在松果体切除脊柱侧凸SD大鼠凹侧生长板软骨细胞内表达增强.

- 结论1. 松果体切除可以在双足鼠中诱发出脊柱侧凸的动物模型, 松果体切除和双足状态是该模型侧凸发生的必要条件.
2. 双足状态使SD大鼠椎体的生长板软骨增殖受到抑制.
3. 该侧凸模型顶椎椎体凹侧生长板软骨存在明显的细胞凋亡.
4. Fas在该侧凸模型顶椎椎体凹侧生长板内表达增加, 提示凹侧生长板的细胞凋亡可能是由Fas所调节.
5. 侧凸发生后的生物力学因素是该模型生长板软骨细胞凋亡的原因, 同时生长板软骨细胞的凋亡将加重侧凸的发展, 从而形成侧凸发展和加重的恶性循环.

5. 学位论文 [王储 椎体骨小梁微结构形态学参数与脊柱侧凸的关系](#) 2009

第一部分

研究背景和目的:
脊柱侧凸动物模型在脊柱侧凸的研究, 尤其是病因学研究中, 起着十分重要的作用. 双足鼠脊柱侧凸模型是一种理想的动物模型. 目前建立双足鼠脊柱侧凸模型的手术方法为双前肢去神经, 而后充分分离脊旁肌暴露左侧肋骨, 用4号丝线栓系高低位肋骨. 这种手术方法死亡率高(9.6%), 主要死亡原因为气胸和大血管损伤, 给研究带来了较高的成本和不确定因素. 本研究拟针对主要死亡原因进行手术方式改良.
材料和方法:
在15只1月龄大鼠中, 采用双上肢去神经(正中神经、尺神经和桡神经)、右侧肋骨用4-0无创缝线栓系建立侧凸模型, 术中不分离脊旁肌.
结果:
术中肋骨栓系时, 可见膈肌活动良好, 肺部无压缩, 未出现气胸或损伤大血管出血, 无大鼠在手术中或手术后死亡.
结论:
建模手术中不分离脊旁肌、选择右侧肋骨栓系和用4-0无创缝线栓系, 成功使得建模手术死亡率降为零, 是一种较好的手术和建模方法.
第二部分
研究背景和目的:
脊柱侧凸是一种复杂的脊柱三维畸形, 目前一般认为其发病原因可分为两大类:生物因素和生物力学因素. 生物因素研究主要集中在褪黑素、钙调蛋白、雌激素受体和生长激素等, 但目前生物因素在青少年特发性脊柱侧凸中的作用仍有争议或尚不清楚. 一直以来, 人们都认为生物力学因素在脊柱侧凸的发生发展中占有重要地位. “恶性循环”理论则提出, 导致侧凸不断加重的原因是生物力学不平衡. 若能改变生物力学不平衡状态, 则能够提早预防侧凸进展. 而目前, 临床上只能通过Cobb角和对顶椎、端椎的定位来判断生物力学不平衡状态, 这种判断只能在椎体或脊柱发生畸形后做出, 属于回顾性判断, 尚无方法在脊柱畸形发生前对脊柱侧凸力学平衡状态进行判断和分析. 根据Wolff定律, 骨小梁微结构应当在生物力学不平衡后即出现改变, 其变化早于椎体或脊柱畸形. 骨小梁微结构形态学参数可能是早期判断脊柱侧凸发生发展的指标. 本实验拟通过建立脊柱侧凸动物模型, 测定其胸椎骨小梁微结构参数, 并将结果同X线片结果进行比对, 进而探讨微结构参数同脊柱侧凸的关系.
材料和方法:
通过肋骨栓系和双上肢正中神经、尺神经、桡神经截断方法, 建立双足鼠脊柱侧凸模型. 大鼠脊柱侧凸模型建立后, 行高笼喂养, 并按照大鼠身高调整高笼, 使得大鼠在进食进水时保持站立位. 3周后对动物模型行全脊柱X线片拍摄, 判断顶椎、端椎和测量Cobb角. 大鼠死后, 用micro-CT对T6至T11扫描, 获得椎体骨小梁微结构形态学参数. 分别分析椎体左右两侧微结构参数, 并进行比较. 将结果同动物模型脊柱侧凸进行对比, 分析微结构参数同侧凸之间的关系.
结果:
椎体微结构形态学参数中:1. 较其他椎体而言, 骨体积分数(BV/TV)在顶椎左右两侧的差异最明显; 2. 椎体左右两侧BV/TV的差别从顶椎开始向端椎递减; 3. BV/TV在正常椎体左右两侧没有差别; 4. BV/TV足够敏感, 能够在脊柱畸形前或早期提示生物力学不平衡.
结论:
椎体微结构参数BV/TV同轴向载荷关系密切, 可早期定量分析脊柱侧凸发生发展倾向, 或可用于早期判断术后有无失代偿情况, 在临床中具有很好应用前景和很高应用价值.

第二部分
研究背景和目的:
脊柱侧凸是一种复杂的脊柱三维畸形, 目前一般认为其发病原因可分为两大类:生物因素和生物力学因素. 生物因素研究主要集中在褪黑素、钙调蛋白、雌激素受体和生长激素等, 但目前生物因素在青少年特发性脊柱侧凸中的作用仍有争议或尚不清楚. 一直以来, 人们都认为生物力学因素在脊柱侧凸的发生发展中占有重要地位. “恶性循环”理论则提出, 导致侧凸不断加重的原因是生物力学不平衡. 若能改变生物力学不平衡状态, 则能够提早预防侧凸进展. 而目前, 临床上只能通过Cobb角和对顶椎、端椎的定位来判断生物力学不平衡状态, 这种判断只能在椎体或脊柱发生畸形后做出, 属于回顾性判断, 尚无方法在脊柱畸形发生前对脊柱侧凸力学平衡状态进行判断和分析. 根据Wolff定律, 骨小梁微结构应当在生物力学不平衡后即出现改变, 其变化早于椎体或脊柱畸形. 骨小梁微结构形态学参数可能是早期判断脊柱侧凸发生发展的指标. 本实验拟通过建立脊柱侧凸动物模型, 测定其胸椎骨小梁微结构参数, 并将结果同X线片结果进行比对, 进而探讨微结构参数同脊柱侧凸的关系.
材料和方法:
通过肋骨栓系和双上肢正中神经、尺神经、桡神经截断方法, 建立双足鼠脊柱侧凸模型. 大鼠脊柱侧凸模型建立后, 行高笼喂养, 并按照大鼠身高调整高笼, 使得大鼠在进食进水时保持站立位. 3周后对动物模型行全脊柱X线片拍摄, 判断顶椎、端椎和测量Cobb角. 大鼠死后, 用micro-CT对T6至T11扫描, 获得椎体骨小梁微结构形态学参数. 分别分析椎体左右两侧微结构参数, 并进行比较. 将结果同动物模型脊柱侧凸进行对比, 分析微结构参数同侧凸之间的关系.
结果:
椎体微结构形态学参数中:1. 较其他椎体而言, 骨体积分数(BV/TV)在顶椎左右两侧的差异最明显; 2. 椎体左右两侧BV/TV的差别从顶椎开始向端椎递减; 3. BV/TV在正常椎体左右两侧没有差别; 4. BV/TV足够敏感, 能够在脊柱畸形前或早期提示生物力学不平衡.
结论:
椎体微结构参数BV/TV同轴向载荷关系密切, 可早期定量分析脊柱侧凸发生发展倾向, 或可用于早期判断术后有无失代偿情况, 在临床中具有很好应用前景和很高应用价值.

第二部分
研究背景和目的:
脊柱侧凸是一种复杂的脊柱三维畸形, 目前一般认为其发病原因可分为两大类:生物因素和生物力学因素. 生物因素研究主要集中在褪黑素、钙调蛋白、雌激素受体和生长激素等, 但目前生物因素在青少年特发性脊柱侧凸中的作用仍有争议或尚不清楚. 一直以来, 人们都认为生物力学因素在脊柱侧凸的发生发展中占有重要地位. “恶性循环”理论则提出, 导致侧凸不断加重的原因是生物力学不平衡. 若能改变生物力学不平衡状态, 则能够提早预防侧凸进展. 而目前, 临床上只能通过Cobb角和对顶椎、端椎的定位来判断生物力学不平衡状态, 这种判断只能在椎体或脊柱发生畸形后做出, 属于回顾性判断, 尚无方法在脊柱畸形发生前对脊柱侧凸力学平衡状态进行判断和分析. 根据Wolff定律, 骨小梁微结构应当在生物力学不平衡后即出现改变, 其变化早于椎体或脊柱畸形. 骨小梁微结构形态学参数可能是早期判断脊柱侧凸发生发展的指标. 本实验拟通过建立脊柱侧凸动物模型, 测定其胸椎骨小梁微结构参数, 并将结果同X线片结果进行比对, 进而探讨微结构参数同脊柱侧凸的关系.
材料和方法:
通过肋骨栓系和双上肢正中神经、尺神经、桡神经截断方法, 建立双足鼠脊柱侧凸模型. 大鼠脊柱侧凸模型建立后, 行高笼喂养, 并按照大鼠身高调整高笼, 使得大鼠在进食进水时保持站立位. 3周后对动物模型行全脊柱X线片拍摄, 判断顶椎、端椎和测量Cobb角. 大鼠死后, 用micro-CT对T6至T11扫描, 获得椎体骨小梁微结构形态学参数. 分别分析椎体左右两侧微结构参数, 并进行比较. 将结果同动物模型脊柱侧凸进行对比, 分析微结构参数同侧凸之间的关系.
结果:
椎体微结构形态学参数中:1. 较其他椎体而言, 骨体积分数(BV/TV)在顶椎左右两侧的差异最明显; 2. 椎体左右两侧BV/TV的差别从顶椎开始向端椎递减; 3. BV/TV在正常椎体左右两侧没有差别; 4. BV/TV足够敏感, 能够在脊柱畸形前或早期提示生物力学不平衡.
结论:
椎体微结构参数BV/TV同轴向载荷关系密切, 可早期定量分析脊柱侧凸发生发展倾向, 或可用于早期判断术后有无失代偿情况, 在临床中具有很好应用前景和很高应用价值.

6. 期刊论文 [刘立峰.朱悦.韩秀鑫.吴亚俊.LIU Li-feng.ZHU Yue.HAN Xiu-xin.WU Ya-jun 双足鼠对侧拴系脊柱侧凸模型的建立 -中华骨科杂志](#)2010, 30(10)

目的 观察双足鼠对侧拴系脊柱侧凸动物模型的效果. 方法 将45只4周龄雌性Wistar大鼠随机分为三组. 1组经皮下拴系左侧肩胛下角和对侧髂骨, 使脊柱发生轻度右凸, 并切除前足和尾部建立双足鼠模型. 第8周时去除拴系线, 再观察2周. 2组行左侧肩胛下角和同侧髂骨拴系, 其余处理同1组. 3组不建立双足鼠模型, 其余处理同1组. 术后均独立饲养, 1组和2组用特制高笼, 3组用标准鼠笼. 比较三组的手术时间、术后首次进食时间、手术死亡率、体重、脊柱相对长度、冠状面和矢状面Cobb角、建模死亡率、二次手术率、脊柱侧凸发生率和椎体旋转发生率. 结果 拴系后即刻三组冠状面Cobb角和矢状面Cobb角的差异均无统计学意义. 建模后第10周, 1组椎体旋转发生率(86.7%)明显大于2组(33.3%), 冠状面Cobb角(30.2°±10.4°)和矢状面Cobb角(55.6°±10.0°)均明显大于3组(20.5°±7.7°和43.8°±6.3°). 1组和2组手术时间长于3组. 在术中和术后6 h内, 三组大鼠均无死亡. 三组间体重、首次进食时间、脊柱相对长度、建模死亡率、二次手术率和脊柱侧凸发生率的差异均无统计学意义. 结论 椎骨的斜向和垂直应力可分别增加椎体旋转的发生和脊柱侧凸的程度, 双足鼠对侧拴系模型能较好地模拟人类的脊柱侧凸.

7. 学位论文 [康宇宁 特发性脊柱侧凸动物模型的诱导及发病机制的探讨](#) 2002

目的: 采用不同方法诱发脊柱侧凸动物模型, 除松果体切除本身可能造成的松果体周围脑组织损伤, 或与松果体相联系的下丘脑的继发性病变而致脊柱侧凸的可能性, 进一步探讨人特发性脊柱侧凸的病因及发病机制. 结论: 昼夜持续强光照射可以抑制鸡松果体合成和分泌褪黑激素, 使其分泌的昼夜节

律性消失,可诱发鸡出现脊柱侧凸畸形.切除松果体和建立脊柱直立的姿势机制以及接受松果体切除术时大鼠的周龄是该动物脊柱侧凸模型制作成功的必要条件.该实验仅诱发出部分鸡和大鼠的脊柱侧凸畸形,提示还有其他因素也与脊柱侧凸的发生有关.

8. 期刊论文 [双足鼠脊柱侧凸模型手术方法改良](#) -中华实验外科杂志2009, 26(12)

目的 双足鼠脊柱侧凸模型是一种理想的脊柱侧凸动物模型.目前建模手术方法死亡率较高.本研究拟从手术方法上探究提高建模手术成功率的方法.方法 在15只1个月龄大鼠中,采用双上肢去神经和右侧肋骨栓系(4-0无创缝线)法建模.术中不分离脊旁肌.观察死亡率.结果 术中肋骨栓系时,所有大鼠膈肌活动良好,未出现气胸或大血管损伤.无大鼠在手术中或术后一周内死亡.结论 建模术中不分离脊旁肌、右侧肋骨栓系和栓系用4-0无创缝线,成功使得建模手术死亡率降为零,是一种较好的手术方法.

9. 学位论文 [沈慧勇 诱发电位监测脊柱侧凸手术的实验与临床研究](#) 1999

该文就麻醉对体感诱发电位的影响、运动诱发电位主人脊柱旋转畸形矫正以及不同诱发电位术中监测的准确性等几个问题探讨如下.第一部分:麻醉药物对体感诱发电位影响的实验研究.麻醉在诱发电位的术中监测中起着非常重要的作用.许多麻醉药物可以使诱发电位的潜伏期和波幅变化,从而影响诱发电位术中监测的准确性.该实验选用10只健康猕猴,直接模拟脊柱手术中的麻醉操作,观察目前常用的几种麻醉药物对不同体感诱发电位的影响;结论:1.许多麻醉药物对皮层体感诱发电位(CSEP)有影响,其中氯胺酮可使其潜伏期明显延长,异氟醚使其波幅明显降低甚至消失;2.硬膜外腔记录的脊髓体感诱发电位(SCEP)受麻醉药物的影响较小;3.肌松药对体感诱发电位影响不大;第二部分:MEP主人脊柱侧凸旋转畸形矫正的实验研究.在脊柱侧凸的治疗方面,人们越来越重视旋转畸形的矫正.新的三维矫正器械的应用使得反旋转的操作越来越简单,但是,在脊椎旋转矫正的同时,脊髓组织及其滋养血管也同样会受到牵拉和挤压,神经损伤的机会也相对增多.该研究首先制作脊柱侧凸的动物模型,然后在运动诱发电位(MEP)的监测下矫正其旋转畸形,观察脊髓功能的耐受程度.并探讨旋转矫正在脊柱侧凸矫正中的作用和意义,根据研究人员查找的有关资料,国内外尚未见有同类报告.结论:1.旋转畸形的矫正脊柱侧凸的维矫正中起着非常重要的作用;2.在SD大鼠,旋转矫正50%是一个临界值;3. MEP监测旋转矫正是一个可行的方法,潜伏期延长10%是临界值.第三部分:诱发电位监测脊柱侧凸矫正术的临床研究.脊髓损伤的并发症始终是脊柱侧凸手术中一个不可忽视的问题.预防神经损伤的关键,是及时发现损伤,尽早作出处理.因此,术中脊髓功能监测越来越受到重视.笔者收集自1995年4月至1999年7月脊柱凸矫正手术116例(与香港中文大学威尔斯亲王医院骨科创伤学系合作),术中作用诱发电位监测脊髓功能.现就各种诱发电位术中监测的准确性及应注意的问题探讨如下:结论:1.皮层体感诱发电位在术中监测时受麻醉影响大,而皮层下体感诱发电位相对稳定,且操作方便,是目前术中监测较理想的方法;2.诱发电位术中监测脊髓功能必须强调麻醉师、手术医生和监测人员三结合,综合分析,才能提高监测的准确性;3. SEP与MEP结合将会更好地反映脊髓功能.

10. 期刊论文 [夏才伟. 邱勇 实验性脊柱侧凸](#) -颈腰痛杂志2006, 27(1)

特发性脊柱侧凸(Idiopathic Scoliosis, IS)在青少年中发病较为普遍,且病因至今未明,成为脊柱外科的研究热点.目前认为其发病可能是多种因素综合作用的结果.近半个世纪以来国内外学者通过建立鸡、兔、大鼠等动物的脊柱侧凸模型,以研究其发病机制.本文就多年来脊柱侧凸模型建立情况及当前病因学进展作一综述,希望藉此对今后的实验开展工作有所参考和启示.

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_lcxewkzz200802007.aspx

授权使用: 黔南民族师范学院(gnmzsfxy), 授权号: 014527c2-ce27-40ce-96f6-9ed400932149

下载时间: 2011年4月29日