

神经损伤分为中枢性和周围性损伤,疾病预后较差,常留下程度不等的后遗症,不仅对个人和家庭,甚至对社会都造成了巨大的压力,严重的危害着人类健康。众所周知,传统观念认为神经损伤后不可再生,这就导致治疗相当困难,而近年来提出神经干细胞的概念后,对传统观念造成了巨大的冲击,也为神经损伤的治疗带来了新的曙光。骨髓间充质干细胞(Bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)因其易获取,免疫原性低等多项优点被广泛应用^[1],但目前的研究报道多涉及干细胞移植干预相关模型,再采用形态学或者行为学评分来评估疗效^[2-5],并未探讨干细胞是否成功迁移至损伤部位,随后能否存活并进行分化。因此本研究旨在神经细胞标志物微管相关蛋白(MAP-2)和胶质纤维酸性蛋白(GFAP)方面着手,通过骨髓源神经干细胞移植治疗 SCSG 损毁兔,不同时间点观察兔瞳孔直径恢复情况,观察受损部位 MAP-2 和 GFAP 含量的变化,来探讨 NSCs 修复神经功能的可能作用及机制。

1 材料与方法

1.1 动物与试剂 健康成年的新西兰雄性白兔 32 只,2 000~2 500 g,由南华大学实验动物部提供;bFGF、CNTF 购自美国 Peprotech 公司;CD34、CD44 和 CD54 单克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司;MAP-2、GFAP 抗体购于武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 动物模型制备 暴露颈部皮肤后逐层分离出颈上交感神经节,用直持针钳压榨交感神经节约 10 s,压下一个齿,并且保持持针钳长轴方向与交感神经节长轴方向一致,神经节与钳头完全咬合,从而保证颈上交感神经节变形超过 50%。

1.3 模型成功标准 模型兔出现 Horner 三联征,瞳孔缩小、眼球凹陷、睑裂变小。瞳孔直径:可通过数码相机拍摄,然后 Image J 软件处理测得瞳孔直径数据,随后进行统计分析。对于模型判定睑裂及眼球凹陷则采用直接图片比较分析。

1.4 动物分组 将 32 只实验兔均分为 4 组,每组 8 只。正常组:不予任何处理。模型组:造模成功后第 7 天注射 1 mL 生理盐水;培养液组:造模成功后第 7 天注射 1 mL 培养液;干细胞组:造模成功后第 7 天注射 1 mL 含 2×10^6 个神经干细胞的培养液。

1.5 细胞培养、诱导分化及鉴定 提取的兔骨髓细

胞,经全骨髓培养法和密度梯度离心法培养 3~5 代后,进行细胞表型鉴定,CD34 阴性,CD44 及 CD54 阳性提示细胞为 BMSCs。采用 Nestin 单克隆抗体鉴定,经 bFGF 预诱导,CNTF 诱导后 BMSCs 分化为神经干细胞。

1.6 HE 染色 移植后第 21 天处死兔,取颈上交感神经节置入甲醛中固定 24 h 后石蜡包埋,4 μ m 切片,切片常规用二甲苯脱蜡;经各级乙醇脱水;蒸馏水水洗 2 min;苏木素染色 5 min;自来水冲洗;盐酸乙醇分化 30 s;自来水浸泡 15 min;置伊红液 2 min;常规脱水,透明,树胶封片,镜检。

1.7 MAP-2 及 GFAP 免疫组化染色 具体操作按照免疫组化试剂盒说明书进行,石蜡切片 70 $^{\circ}$ C 烤片 10 min;二甲苯 I II 各 30 min;再按无水乙醇到 75%乙醇中逐级脱水;去离子水 5 min;柠檬酸盐缓冲液抗原热修复 15 min;PBS 每次 5 min,洗 3 次;过氧化氢 15 min;再次 PBS 洗 3 次;血清封闭 1 h;去除血清,加一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;PBS 洗 3 次每次 5 min;二抗 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min;PBS 洗 3 次每次 5 min;DAB 显色,苏木素复染,树胶封片,镜检。

1.8 图像分析和统计学处理 统计分析和绘制采用 Graphpad Prism 软件,运用单因素方差分析以及 LSD 组间比较法,数据使用均数 $\pm$ 标准差表示, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结 果

2.1 兔瞳孔测量结果 模型组与培养液组比较,各个时间点瞳孔直径差异均无显著性($P > 0.05$);干细胞组分别与模型组和培养液组对比,移植后第 1 天、7 天差异不明显($P > 0.05$),第 10 天、14 天、21 天干细胞组瞳孔直径均大于模型组和培养液组($P < 0.05$);干细胞组与正常组比较,细胞移植后第 1 天、7 天、10 天干细胞组瞳孔直径均小于正常组($P < 0.05$),第 14 天、21 天差异不明显($P > 0.05$)(表 1)。

2.2 HE 染色结果 切片制成后,进行 HE 染色,观察神经节内病理组织学改变,正常组与干细胞组可见细胞大小形态基本一致,分布均匀,排列整齐、紧密,少量间质增生,新生血管丰富,未见明显核固缩。模型组与培养液组可见细胞大小各异,分布不均,排列紊乱,可见炎性细胞浸润,细胞间质增生明显,可见核固缩(图 1)。

2.3 MAP-2、GFAP 免疫组化结果 MAP-2 和 GFAP 主要存在于胞浆中,若阳性表达则胞浆着棕

表 1 不同时间点各组瞳孔测量数据 (mm)

组别	n	第 1 天	第 7 天	第 10 天	第 14 天	第 21 天
正常组	8	7.92±0.38	8.02±0.30	8.13±0.37	7.96±0.36	8.12±0.25
模型组	8	5.82±0.42 ^a	5.84±0.34 ^a	5.68±0.29 ^a	5.91±0.31 ^a	5.80±0.36 ^a
培养液组	8	5.85±0.32 ^a	5.75±0.32 ^a	5.64±0.37 ^a	5.84±0.27 ^a	5.59±0.23 ^a
干细胞组	8	5.64±0.33 ^a	5.72±0.35 ^a	6.79±0.33 ^{abc}	7.98±0.28 ^{bc}	8.06±0.21 ^{bc}

与正常组比较, a: $P<0.05$; 与模型组比较, b: $P<0.05$; 与培养液组比较, c: $P<0.05$

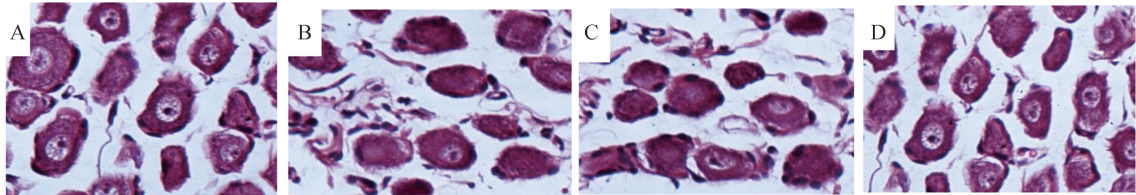


图 1 HE 染色观察各组神经节内病理学变化 (400×) A: 正常组; B: 模型组; C: 培养液组; D: 干细胞组

黄色, 着蓝紫色表示阴性表达。MAP-2、GFAP 免疫组化结果表明 (见图 2、图 3), 干细胞组和正常组 MAP-2 呈阳性表达, GFAP 呈阴性表达; 模型组和培养液组 MAP-2 呈阴性表达, GFAP 呈阳性表达, 差异有显著性 ($P<0.05$)。

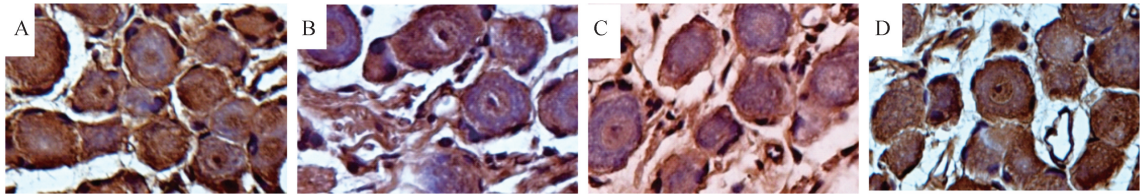


图 2 MAP-2 免疫组化结果 (400×) A: 正常组; B: 模型组; C: 培养液组; D: 干细胞组

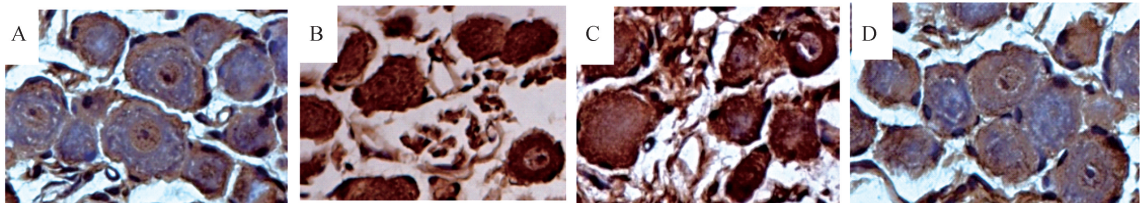


图 3 GFAP 免疫组化结果 (400×) A: 正常组; B: 模型组; C: 培养液组; D: 干细胞组

3 讨 论

MAP-2 作为神经元细胞骨架的重要组成部分, 在神经系统形成、发育以及再生过程中扮演着重要角色, 参与神经纤维的信号传导和物质转运等过程, 所以 MAP-2 既是一种结构蛋白又是一种功能蛋白, 可以作为神经元特有标志物来反应神经细胞的损害程度, MAP-2 含量的多少可以作为一个判定标准判断神经细胞是否死亡。相关神经生物学研究证实病人脊髓发生损伤后其损伤区 MAP-2 含量是显著下

降的^[6]。MAP-2 作为一种功能蛋白有助于神经细胞缺血急性期耐受缺氧环境, 但随着时间推移, 缺血缺氧的持续导致神经元大量死亡, MAP-2 的含量也随之下降^[7-8], 并且从缺血中心区逐渐向缺血半暗带延续^[9], 所以 MAP-2 被认定是神经元缺血的敏感指标。同样 GFAP 参与胶质细胞的骨架构成并维持其张力强度^[10], 为星型胶质细胞的标志性蛋白, 仅在成熟的胶质细胞表达。GFAP 可以调节细胞的代谢, 分泌相关营养因子参与信号传导等^[11-12]。在正常脑组织中, GFAP 免疫组化检测多为阴性, 当神经

系统损伤后,星形胶质细胞快速反应,其标志之一就是 GFAP 的表达^[13],所以可将 GFAP 的表达作为星形胶质细胞活动的标志之一,判断急性期神经的损伤。神经损伤后,星形胶质细胞最开始反应性增生,早期的增生具有保护作用,但是胶质细胞过度的增生则容易形成胶质瘢痕,阻碍神经元纤维活动联结^[14]。

本实验中模型组和培养液组兔 SCSG 在细胞移植后第 21 天 MAP-2 表达呈阴性,GFAP 表达呈阳性,且两组 MAP-2 表达明显低于正常组,而 GFAP 表达高于正常组,由此可知兔颈上交感神经节损毁后神经元标志性蛋白 MAP-2 表达量是下调的,星形胶质细胞的标志性蛋白 GFAP 表达是增加的。而干细胞组移植后第 21 天 MAP-2 表达呈阳性,与正常组无明显统计学差异,但明显高于模型组与培养液组,由此可认为干细胞移植能促进神经节内 MAP-2 的分泌。而干细胞组 GFAP 表达呈阴性,明显低于模型组与培养液组,可推测神经干细胞抑制了胶原纤维的过度增生,下调了 GFAP 的表达。综上所述,本研究认为兔 SCSG 损毁导致神经元损伤,神经功能障碍,进而导致 MAP-2 下降,GFAP 表达上调,从而引起神经功能障碍,阻碍了神经功能的恢复。而神经干细胞移植后,MAP-2 表达增加,GFAP 表达下降,抑制了胶质细胞的增生,促进了神经功能的恢复,说明 MAP-2 在神经功能修复过程中发挥着重要作用,但在本实验中,MAP-2 作为神经元的敏感指标,细胞干预组兔瞳孔直径在细胞移植后 10~14 天即有明显恢复,由于只研究了细胞移植后 21 天 MAP-2 的值,MAP-2 的增高与神经功能的恢复的先后顺序未知,本课题组将继续深入探讨在这一修复过程中 MAP-2 的变化情况。另外神经细胞损伤后伴随着胶质增生,且 GFAP 表达上调,早期适度增生是有利于神经功能恢复的,但是后期过度增生导致胶质瘢痕形成阻碍了神经元的再生,由此可知需要评估最佳移植时间点以便达到最好的移植效果,这也将是本课题组以后研究的重点。

参考文献:

- [1] Klinker MW, Wei CH. Mesenchymal stem cells in the treatment of inflammatory and autoimmune diseases in experimental animal models[J]. World J Stem Cells, 2015, 7(3): 556-567.
- [2] Hao L, Zou Z, Tian H, et al. Stem cell-based therapies for ischemic stroke[J]. Biomed Res Int. 2014, 2014(2014): 468748-468748.
- [3] Eckert MA, Vu Q, Xie K, et al. Evidence for high translational potential of mesenchymal stromal cell therapy to improve recovery from ischemic stroke[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2013, 33(9): 1322-1334.
- [4] Lin YC, Ko TL, Shih YH, et al. Human umbilical mesenchymal stem cells promote recovery after ischemic stroke[J]. Stroke, 2011, 42(7): 2045-2053.
- [5] 王芳. BMSCs 移植对缺血性脑卒中鼠 IL-10、TGF- β 1 表达的影响[D]. 衡阳: 南华大学, 2014: 1-53.
- [6] Gotohda T, Tokunaga I, Kitamura O, et al. Toluene inhalation induced neuronal damage in the spinal cord and changes of neurotrophic factors in rat[J]. Leg Med, 2007, 9(3): 123-127.
- [7] Rota Nodari L, Ferrari D, Giani F, et al. Long-term survival of human neural stem cells in the ischemic rat brain upon transient immunosuppression[J]. PLoS One, 2010, 5(11): e14035.
- [8] Zhou Q, Zhang Q, Zhao X, et al. Cortical electrical stimulation alone enhances functional recovery and dendritic structures after focal cerebral ischemia in rats[J]. Brain Res, 2010, 1311(2): 148-157.
- [9] Xiao-Hua X, Ling L, Mei Y, et al. Dynamic changes of microtubule-associated proteins, heat shock proteins and glial fibrillary acidic proteins after experimental cerebral infarction and reperfusion[J]. Chin J Clin Reh, 2005, 9(9): 73-75.
- [10] Hergenroeder GW, Redell JB, Moore AN, et al. Biomarkers in the clinical diagnosis and management of traumatic brain injury[J]. Mol Diagn Ther, 2008, 12(6): 345-358.
- [11] Zoltewicz JS, Scharf D, Yang B, et al. Characterization of antibodies that detect human GFAP after traumatic brain injury[J]. Biomark Insights, 2012, 7: 71-79.
- [12] Gwak YS, Kang J, Unabia GC, et al. Spatial and temporal activation of spinal glial cells: role of gliopathy in central neuropathic pain following spinal cord injury in rats[J]. Exp Neurol, 2012, 234(2): 362-372.
- [13] Middeldorp J, Hol EM. GFAP in health and disease[J]. Prog Neurobiol, 2011, 93(93): 421-443.
- [14] Otani N, Nawashiro H, Fukui S, et al. Enhanced hippocampal neurodegeneration after traumatic or kainate excitotoxicity in GFAP-null mice[J]. J Clin Neurosci, 2006, 13(9): 934-938.

(本文编辑: 蒋湘莲)

金黄色葡萄球菌肠毒素 B 激活 TACE 诱导人鼻黏膜上皮细胞分泌黏蛋白

刘 珺, 廖剑绚*, 唐洪波, 周芝芳

(南华大学附属第一医院耳鼻喉科, 湖南 衡阳 421001)

摘 要: **目的** 观察金黄色葡萄球菌肠毒素 B(SEB) 对人鼻黏膜上皮细胞活性氧(ROS)和肿瘤坏死因子转化酶(TACE)活性的影响,并探讨其在介导黏蛋白 MUC5AC 分泌中的作用。**方法** 体外培养人鼻黏膜上皮细胞,用不同浓度的 SEB 孵育细胞 0~24 h,采用荧光共振能量转移法检测 TACE 的酶活性,荧光探针 H2DCFDA 检测鼻黏膜上皮细胞中活性氧(ROS)的含量,ELISA 检测培养上清中 MUC5AC 的分泌水平。同时采用 TACE siRNA 干扰或 ROS 抑制剂 NAC 处理细胞,观察其在介导 MUC5AC 分泌中的作用。**结果** 100 ng/mL SEB 作用鼻黏膜上皮细胞 15 min 后即可上调 TACE 的酶活性,30~60 min 后达到峰值,并持续至 2 h;SEB 也能增加鼻黏膜上皮细胞内 ROS 的含量;采用 NADPH 氧化酶抑制剂 DPI 处理后,ROS 水平明显减少;ROS 抑制剂 NAC 处理鼻黏膜上皮细胞后,可明显降低 TACE 的酶活性;30~100 ng/mL SEB 能显著诱导鼻黏膜上皮细胞分泌 MUC5AC,采用 TACE siRNA 干扰其表达或抑制剂处理后,可抑制 MUC5AC 分泌。**结论** SEB 激活 TACE 诱导人鼻黏膜上皮细胞分泌 MUC5AC。

关键词: 金黄色葡萄球菌肠毒素 B;肿瘤坏死因子 α 转化酶;活性氧;黏蛋白

中图分类号:R378.1

文献标识码:A

Staphylococcus Aureus Enterotoxin B Induces Human Nasal Epithelial Cells Secretion of MUC5AC via Activation of TACE

LIU Jun, LIAO Jianxuan, TANG Hongbo, et al

(Depart. Otorhinolaryngology, The First affiliated hospital of University of South China, Hengyang 421001, China)

Abstract: **Objective** To observe the effect of staphylococcus aureus enterotoxin B (SEB) on reactive oxygen species (ROS) production and tumor necrosis factor converting enzyme (TACE) activity in human nasal epithelial cells, and explore its role in MUC5AC secretion. **Methods** Human nasal epithelial cells were cultured in vitro, and then were stimulated with different concentrations of SEB for 0~24 h. The activity of TACE was measured by fluorescence resonance energy transfer method, SEB-induced production of ROS was detected by using the fluorescent probe H2DCFDA. To investigate the role of TACE and ROS in MUC5AC secretion, nasal epithelial cells was transfected by TACE siRNA or the ROS inhibitor NAC, and secretion of MUC5AC in the culture supernatant was detected by ELISA. **Result** The enzymic activity of TACE was up-regulated followed by treatment of 100ng/mL of SEB for 15min, peaked at 30~60min and lasted for 2 h. In addition, SEB could induce ROS accumulation in human nasal epithelial cells, and this ability could be abrogated by DPI, an inhibitor of NADPH oxidase. Moreover, treatment of the ROS inhibitor NAC significantly decreased the enzymic activity of TACE. Furthermore, secretion of MUC5AC were abrogated when the cells were transfected the TACE siRNA or treated by its inhibitor TAPI. **Conclusions** SEB induces MUC5AC secretion via ROS and TACE in human nasal epithelial cells.

Key words: staphylococcal aureus enterotoxin B; tumor necrosis factor- α converting enzyme; reactive oxygen species; MUC5AC

收稿日期:2016-03-06;修回日期:2016-05-19

基金项目:湖南省科技计划项目(2013SK3114).

* 通讯作者, E-mail: 278691897@qq.com.

慢性鼻—鼻窦炎 (chronic rhinosinusitis, CRS) 是一种多因素所致的鼻黏膜纤毛功能障碍, 是耳鼻喉科最常见的多发病之一。其病因与发病机制复杂, 病原微生物感染、鼻内解剖结构异常、遗传因素、以及环境因素均是 CRS 的重要诱因^[1,2]。CRS 作为一种炎症相关疾病, 病原体感染在其发病中的作用并不完全明确。CRS 显著的病理生理特征是鼻黏膜黏液分泌增加, 纤毛清除功能减弱, 后者可引起黏液淤积并继发性引起细菌感染, 由此引起的炎症反应又可加重黏液—纤毛清除系统的损伤, 形成恶性循环^[3]。人体呼吸道黏液的主要成分是黏蛋白, 它主要由鼻黏膜上皮杯状细胞和杯状细胞分泌, 目前已知的黏蛋白基因近 20 余种, 其中以 MUC5AC 最重要。生理条件下, MUC5AC 在维持气道湿化、协助上皮细胞功能等方面发挥重要作用, 因此是呼吸系统抵御外界刺激的非特异性屏障。但在某些病理条件下, 黏蛋白的过度分泌可使 CRS 黏膜局部防御功能减弱和纤毛清除功能降低, 导致局部反复感染^[4-5]。研究表明, CRS 患者鼻腔内金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌的检出率较高^[6-7], 其中金黄色葡萄球菌肠毒素 B (Staphylococcus aureus enterotoxin B, SEB) 可能是 CRS 发病的重要病原相关分子模式^[8]。但 SEB 究竟通过何种机制参与黏蛋白分泌目前尚未明了, 本研究旨在初步探讨 SEB 诱导 MUC5AC 分泌的分子机制。

1 材料与方法

1.1 试剂 SEB 购自 Toxin Technology (Sarasota, FL), 纯度>95%。胎牛血清、DMEM/Ham F12 培养基购自 Hyclone。二亚苯基碘 (Diphenyleneiodonium, DPI)、N-乙酰-半胱氨酸 (N-acetyl-cysteine, NAC) 胰蛋白酶、2', 7'-二氯二氢荧光黄二乙酸酯 (2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, H2DCFDA) 以及 TAPI 购自 Sigma-Adrich。MUC5AC ELISA 检测试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司。肿瘤坏死因子转化酶 (tumor necrosis factor converting enzyme, TACE) 活性检测试剂盒购自 Anaspec。TACE siRNA 由广州 ribobio 公司合成。

1.2 细胞培养 本研究所用的鼻黏膜上皮细胞来自下鼻甲黏膜组织, 为南华大学附属第一医院耳鼻喉科行鼻中隔手术患者的标本。开展研究前获得了患者的知情同意且研究方法符合本院医学伦理委

员会标准。所有患者无变应性鼻炎、哮喘病史, 且近期无糖皮质激素、抗组胺类药物及阿司匹林耐受不良史。即手术中获取的下鼻甲标本于含有 100 IU/mL 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素的磷酸盐缓冲液中, 无菌条件下反复冲洗。随后置于 5 倍体积的胰蛋白酶中 (0.25%), 4 $^{\circ}$ C 消化 16~18 h。用吸管吹打 2~3 min, 收集脱落的上皮细胞, 加入终浓度为 2.5% 的胎牛血清终止消化。1 000 rpm 离心 5min 收集并采用完全培养基 (DMEM/Ham F12 培养基中含 10% 胎牛血清、100 IU/mL 青霉素、100 μ g/mL 链霉素) 漂洗细胞 2 次。将细胞接种于培养板中, 根据参考文献提供的方法去除鼻黏膜上皮细胞中的成纤维细胞和红细胞^[9]。细胞于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下培养。待细胞 80% 以上融合后, 加入 1, 10, 100 ng/mL SEB 处理不同时间后用于下一步研究。

1.3 ROS 测定 鼻黏膜上皮细胞处理完毕后, 终浓度 5 μ mol/L 的 H2DCFDA 染液, 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min, 每 3~5 min 轻微振荡 1 次, 使探针和细胞充分作用。孵育结束后用无菌 PBS 漂洗涤细胞 3 次以去除未进入细胞内的探针。设置荧光酶标仪激发波长 485 nm, 发射波长 530 nm, 测定其荧光强度。

1.4 TACE 活性检测 采用荧光共振能量转移原理间接测定 TACE 的酶活性, 按照 AnaSpec 公司提供的试剂盒的操作步骤进行。该试剂盒含有底物 QXLTM520/5-FAM, 该底物能被 TACE 特异性降解, 从而使 QXLTM520 无法淬灭荧光分子 5-FAM。因此当样品中若含有 TACE 后, 它通过降解该底物而产生 5-FAM, 其荧光强度与 TACE 的活性成正比。在荧光酶标仪 (Synergy HT, Bio-Tec) 上设置激发波长 490 nm, 发射波长 520 nm, 测定各组荧光强度, 结果以相对活性表示, 计算公式: 处理组活性/对照组活性。

1.5 转染与 RNA 干扰 将生长状态旺盛的鼻黏膜上皮细胞接种于 6 孔板中 (含 1.5 mL 无血清培养基) 培养 24 h。按 Lipofectamine 2000 提供的操作步骤配制好 A 液和 B 液。其中 A 液将 10 μ L siRNA 用无血清培养基溶解 (本文所用的 TACE siRNA 序列分别为: 正义链 5'-GGUUUAAAGGCCUAUGGAAtt-3'; 反义链 5'-UUGCAUAGCCUUUAAAACtg-3'), 终体积为 250 μ L。B 液将 5 μ L Lipofectamine 2000 用 250 μ L 无血清培养基稀释。充分混匀后室温静置 20 min; 随后将上述 A、B 混合液加至细胞培养液中, 使 TACE siRNA 终浓度约为 100 nmol/L。4 h 后弃上清, 更换

于实验方法局限性,仍不能得出可靠的结论^[4-5]。为了进一步探讨高粘度骨水泥疗效和并发症是否优于低粘度骨水泥,本文分析本院自2009年1月至2015年10月行PVP手术患者,按照使用骨水泥的类型不同分为高粘度骨水泥和低粘度骨水泥组,分析两组患者的PVP手术疗效和安全性,为骨水泥在PVP手术中的应用提供临床资料,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 回顾性分析2009年1月至2015年10月我院收治的80例OVCF患者,其中男38例,女42例;年龄53~78岁,平均(63.2±1.8)岁,患者一般资料见表1。根据使用骨水泥类型分为高粘度骨水泥组(高粘度组)和低粘度骨水泥组(低粘度组)。纳入标准:(1)临床症状与影像学检查符合OVCF诊断标准;(2)年龄≥50岁;(3)VAS评分≥5分;(4)患者知情同意参与本研究;排除标准:(1)拒绝参与本研究的患者;(2)伴有脊髓损伤或者神经损伤患者;(3)病理性疾病导致椎体骨折;(4)患者一般情况不能耐受PVP患者;(5)穿刺部位有感染或凝血功能有障碍的患者。

表1 两组患者的一般资料

指标	高粘度组	低粘度组	t/χ^2 值	P值
病人	40	40		
男/女	25:15	28:12	3.672	0.055
年龄(岁)	77.2±8.1	75.4±6.8	1.076	0.285
椎体节段(个)	98	86	-	-
体重指数(kg/m ²)	23.4±3.5	24.1±2.8	0.988	0.326
病程(天)	4.4±2.3	3.8±1.9	1.272	0.207
手术时间(分)	45.7±10.4	42.1±8.7	1.679	0.097
骨水泥体积(mL)	3.4±0.6	3.5±0.8	0.632	0.529
单侧/双侧	55:43	42:44	0.170	0.680

1.2 手术方法 患者俯卧于脊柱外科四点式支

架上,悬空胸腹部,运用C型臂X线机透视定位后将骨折椎体运用1%利多卡因进行局部麻醉。穿刺针经椎弓根穿刺至骨折椎体合适位置,C型臂X线机透视见位置满意,持续C型臂X线机监视下将调好的PMMA骨水泥(PMMA骨水泥调制至拉丝期),并通过专用注射器和特制液压推进泵注入椎体,水泥注入量为2.5~5.0 mL,平均2.5±1.0 mL,注入位置在椎体前中1/3处。高粘度组采用PALACOS R+G高粘度PMMA骨水泥(Heraeus Medical GmbH,德国)。低粘度组采用MENDEC Spine低粘度PMMA骨水泥(Tecres S.P.A,意大利)。

1.3 术后评估 术后1天行脊柱X线片检查及术后出院时行脊柱X线片和CT检查评估骨水泥分布情况以及骨水泥渗漏是否发生渗漏,该评估均由两名影像科专家进行诊断,意见不一致时进行讨论解决。术后腰痛变化采用视觉模拟评分(visual analogue scale,VAS)进行评估;术后腰椎功能采用Oswestry功能障碍指数(Oswestry disability index,ODI)进行评价。随访时均行脊柱X线片检查并评估邻近椎体骨折发生情况。

1.4 统计学分析 所有数据采用SPSS 20.0统计学软件分析。VAS、ODI以及Cobb角在术后不同时间段采用重复测量方差分析,两组间比较采用配对样本 t 检验,两组骨水泥渗漏率采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 VAS评分 两组患者术前、术后1天及术后3个月随访时VAS评分见表2,两组患者术前VAS评分差异无统计学意义($P>0.05$),高粘度组和低粘度组在不同时间段中比较差异有统计学意义($P<0.05$),高粘度组在术后不同时间点VAS评分低于低粘度组,差异有统计学意义($P<0.05$),表2。

表2 两组患者VAS评分比较结果

分组	n	术前	术后1天	术后3个月	合计	F值	P值
高粘度组	40	17.5±1.5	3.2±2.5	2.2±0.5	7.7±1.5	23.12	0.013
低粘度组	40	17.4±1.0	4.2±1.5	2.9±0.9	8.2±1.1	27.60	0.004
合计		17.5±1.2	3.7±2	2.6±0.7	7.95±1.3	15.32	0.006
t 值		0.351	2.169	4.300	2.117	0.145	
P值		0.727	0.033	<0.001	0.019		