

·基础研究·

腰椎管狭窄症肥厚黄韧带的病理学研究及其与腰椎过度伸屈运动的相关性

张宇¹ 陈建庭¹ 钟招明¹ 侯刚¹ 张育斌¹

摘要

目的:观察弹性纤维与胶原在正常黄韧带和肥厚黄韧带内不同应力部位的变化情况,探讨腰椎过度屈伸活动造成黄韧带损伤后其内部胶原过度表达所致纤维化与黄韧带厚度的相关性。

方法:腰椎手术中收集黄韧带标本20例,其中10例来自腰椎间盘突出患者正常厚度黄韧带,设为对照组(n=10);10例来自因黄韧带肥厚导致腰椎管狭窄患者的黄韧带(n=10)。对比正常黄韧带和肥厚黄韧带及肥厚黄韧带不同应力部位(腹侧部、中间部、背侧部)之间的弹性纤维和胶原表达差异;鉴定表达胶原类型;分析黄韧带厚度与黄韧带纤维化程度的相关性。

结果:两组患者黄韧带厚度存在显著性差异($P<0.01$);肥厚黄韧带内弹性纤维减少、胶原表达增多,纤维化程度明显高于正常黄韧带组;应力集中的肥厚黄韧带背侧部胶原表达增多、纤维化程度明显高于中间部和腹侧部;过度表达的胶原为I型和III型胶原;黄韧带厚度与黄韧带纤维化程度呈显著正相关($r=0.77$)。

结论:弹性纤维减少、I型和III型胶原表达增多形成纤维化是导致黄韧带肥厚造成腰椎管狭窄的主要病因,在应力集中的黄韧带背侧部表达更显著,脊柱康复运动应避免过度腰椎屈伸活动。

关键词 黄韧带肥厚;弹性纤维;胶原;纤维化;腰椎管狭窄;腰椎康复运动

中图分类号:R681.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2010)-04-0305-06

Pathological analysis of ligamentum flavum hypertrophy from lumbar spinal canal stenosis and its relation with excessive flexion-extension movement of lumbar spine/ZHANG Yu, CHEN Jianting, ZHONG Zhao ming, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2010, 25(4):305—310

Abstract

Objective: To investigate the distribution of elastic fiber and collagen in the ventral part, middle part, dorsal part of normal ligamentum flavum (LF) and hypertrophic LF and to discuss the relation between excessive flexion-extension movement and LF fibrosis and thickness of LF.

Method: Twenty LF were collected from patients with lumbar spinal stenosis (LSS) and lumbar disc herniation(LDH) in surgery. There were 10 patients with LSS and 10 patients with LDH selected as an experimental group and control group respectively. The contents of elastic fibers and expression of collagen in normal LF and hypertrophic LF were assessed and the types of collagen were evaluated. Data were collected from 3 regions of LF: ventral, middle, and dorsal parts. The correlation between fibrosis score and thickness of LF was analyzing.

Result: The thickness of LF was significantly thicker in the patients with LSS than in those with LDH ($P<0.01$). Elastic fiber decreased and collagen increased in hypertrophic LF, and the fibrosis scores in LF were significantly higher in the patients with LSS especially in dorsal parts. The over-expression collagens were identified as collagen type I and collagen type III. The fibrotic scores increasing with thickness of LF showed a significant positive linear correlation($r=0.77$).

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2010.04.003

1 南方医科大学南方医院脊柱骨病科,广州,510515

作者简介:张宇,男,医学博士;收稿日期:2009-12-11

Conclusion: Elastic fiber decreasing and collagen type I, III increasing cause fibrosis and LF hypertrophy of especially in dorsal part. This is a risk factor for lumbar spinal canal stenosis. Excessive flexion-extension movement in lumbar spine should be avoided in rehabilitation treatment.

Author's address Department of Orthopedic and Spinal Surgery, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, 510515

Key words ligamentum flavum hypertrophy; elastic fiber; collagen; fibrosis; lumbar spinal canal stenosis; rehabilitation treatment of lumbar spine

随着中国进入老龄化的社会，腰椎管狭窄症是康复医学专业最常见的脊柱疾病之一^[1-3]。其可诱发如下肢无力、麻木、腰背部疼痛、神经性跛行等多种临床症状，在超过65岁人群中发病率为1:1000^[4]。黄韧带覆盖于腰椎管的侧后方，其增生、肥厚是导致腰椎管狭窄的主要病因之一。在组织构成上划分，黄韧带主要由弹力纤维、胶原纤维、网状纤维和基质四种成分构成，其中弹性纤维和胶原纤维比例约为2:1^[5]。弹性纤维为黄韧带结构提供柔韧性，胶原纤维提供支撑和稳定性；从解剖层次上划分，黄韧带分为背侧部、中间部和贴近脊髓硬脊膜表面的腹侧部，在脊柱屈伸活动过程中，每部所受牵拉应力刺激不同，以背侧部最大^[6]。随年龄增长，黄韧带内弹性纤维减少，胶原表达增多导致纤维化，黄韧带退变形成增生、肥厚^[7]。其他因素如转化生长因子TGF-β等参与了黄韧带增生肥厚的过程，在黄韧带退变早期其表达最强，随黄韧带肥厚加重，其表达降低，因此不能完全解释其形成病因，同时未排除年龄增长导致黄韧带退变干扰因素^[8]。

正常人体腰椎活动范围为前屈约45°、后伸约30°。已有研究证实，腰椎过度屈伸活动会牵拉黄韧带产生损伤，在损伤修复过程中产生瘢痕反应，形成黄韧带增生、肥厚导致腰椎管狭窄^[6,9]。本研究拟通过病理染色方法比较黄韧带背侧部、中间部和腹侧部纤维化程度有无差别，鉴定导致纤维化的胶原类型，同时对黄韧带厚度与纤维化的相关性进行分析。以期通过限制脊柱过度屈伸活动，减少黄韧带损伤引发的瘢痕反应，引导老年腰椎管狭窄患者进行正确的腰椎康复功能训练。

1 材料与方法

1.1 标本来源

20个标本来自20名临床患者，采集自2008年

9月—2009年7月收入南方医科大学脊柱骨病外科因脊柱疾患行手术治疗患者并签知情同意书。所有患者均于术前在MR的T1加权像下测量黄韧带厚度^[5]，每例黄韧带厚度均测量3次取平均值。20例腰椎黄韧带标本分两组，黄韧带肥厚致腰椎管狭窄组(lumbar spinal stenosis, LSS)10例，其中男7例、女3例；年龄53—63岁(平均57.7岁)；取材部位：L4/5 4例，L5/S1 6例；黄韧带厚度4.24—8.78mm(平均5.69mm)。正常对照组10例，全部取自腰椎间盘突出症(lumbar disc herniation, LDH)患者，其中男女各5例；年龄45—59岁(平均54.6岁)；取材部位：L4/5 7例，L5/S1 3例；黄韧带厚度1.77—4.23mm(平均2.88mm)。所有黄韧带标本均取自椎板部的中央部分(椎板间部)。所有患者均主诉下腰痛或下肢痛；强直性脊柱炎、脊柱侧凸、椎体压缩骨折等脊柱畸形患者排除在研究之外。

1.2 标本制备

腰椎管狭窄减压术和腰椎间盘突出症腰椎间盘摘除术中，行腰椎后路手术，切取黄韧带，剥离附着的骨、脂肪等组织，0.9%生理盐水冲洗，10%甲醛固定48h，石蜡包埋后4μm连续切片，切片方向沿黄韧带矢状面。

1.3 Masson染色

脱蜡前，将切片在60℃恒温箱中烘烤20min。切片置于二甲苯中浸10min，更换二甲苯后再浸泡10min；无水乙醇至75%乙醇逐级水化；重蒸水浸泡3min；苏木色精染色液染色3min，水洗返蓝；Masson改良三色染料染色10min，水洗至无染料脱落；0.2%醋酸溶液洗30—60s；脱水、透明；中性树胶封片；普通光镜观察。

1.4 天狼猩红-偏振光染色

脱蜡前，组织切片置于60℃恒温箱中烘烤20min；组织切片二甲苯I浸泡10min，二甲苯II浸

泡10min;乙醇逐级复水;重蒸水浸泡3min;流水冲洗10min;蒸馏水漂洗;用0.2%磷钼酸水溶液处理(1—5min);0.1%天狼猩红饱和苦味酸溶液染色90min;0.01N盐酸漂洗2min;在70%酒精中冲洗45s;逐级脱水透明,二甲苯I浸泡5min,二甲苯II浸泡5min。中性树胶封片。

1.5 两组黄韧带纤维化结果评分

参照Sairyo2007年纤维化评分方法^[6]。Masson染色后弹性纤维为粉红色,胶原为蓝色。纤维化0级:组织内全部为粉红色弹性纤维;纤维化1级:胶原表达≤25%;纤维化2级:胶原表达>25%并≤50%;纤维化3级:胶原表达>50%并≤75%;纤维化4级:胶原表达>75%,视野内基本为蓝色胶原表达。分别评定LSS组和LDH组纤维化程度并对比,同时评定每组内背侧部、中间部、腹侧部三个不同解剖部位纤维化程度并对比。

1.6 统计学分析

患者年龄、黄韧带厚度比较数据以均数±标准差表示,应用t检验分析;每个标本在Olympus显微镜下随机选取图像,对每个黄韧带纤维化程度评分;并分别在每个黄韧带背侧部、中间部、腹侧部内随机选取图像,将纤维化评分后进行对比分析;黄韧带增生肥厚纤维化程度采用秩和检验Willcoxon法;黄韧带厚度与纤维化程度相关性采用Pearson法分析。

2 结果

2.1 两组患者年龄和黄韧带厚度比较结果

见表1。LSS组和LDH组年龄比较无差异,在排除掉年龄干扰因素后,对比两组黄韧带厚度差异有显著性。

表1 两组患者年龄和黄韧带厚度比较结果 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

| | LDH | LSS | P |
|-----------|-----------|-----------|-------|
| 年龄(岁) | 54.6±5.1 | 57.70±4.0 | >0.05 |
| 黄韧带厚度(mm) | 2.88±0.73 | 5.69±1.45 | <0.01 |

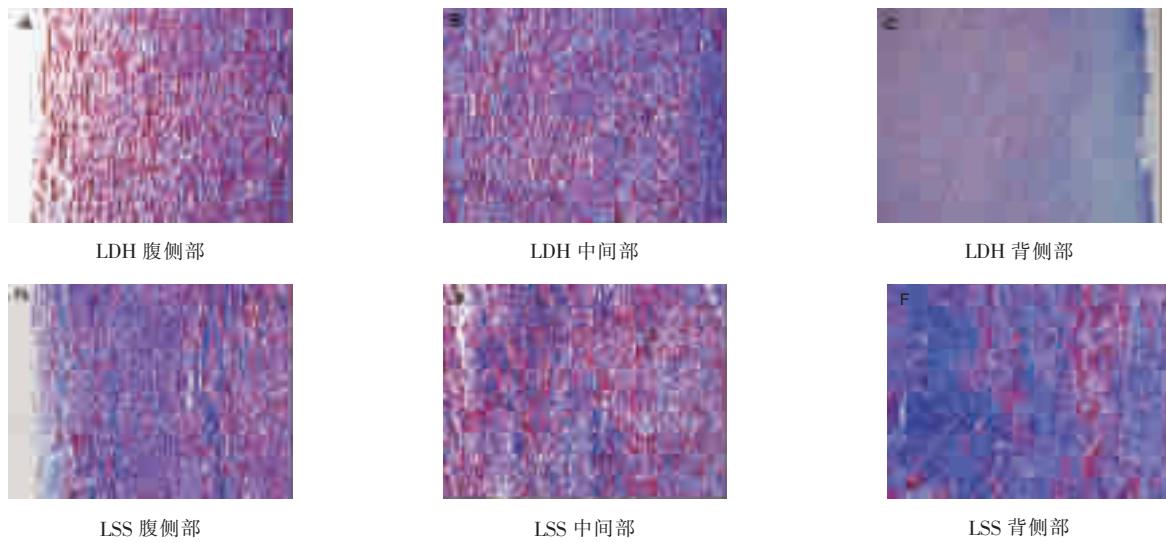
2.2 Masson染色普通光镜观察

对比LSS和LDH两组黄韧带内弹性纤维减少和胶原表达增多情况,见图1。在低倍镜($\times 20$)下分别观察Masson三色染色法,显示LDH和LSS组腹侧部、中间部、背侧部弹性纤维和胶原表达情况。弹性纤维显示为纤细连续的粉红色纤维,胶原显示为蓝色。LDH组见弹性纤维平行排列、纤细且连接紧密,期间夹杂少量蓝色胶原;LSS组弹性纤维中断、数量减少,排列紊乱,中间夹杂大量呈团块状扭曲状的蓝色胶原。

图1A显示LDH组黄韧带腹侧部为粉红色弹性纤维,蓝色胶原区域极少,纤维化程度0度;图1B纤维化程度Ⅰ度,LDH组黄韧带中间部;图1C-D纤维化程度Ⅱ度,依次为LDH组黄韧带背侧部和LSS组肥厚黄韧带腹侧部;图1E纤维化程度Ⅲ度,LSS

图1 LSS和LDH两组黄韧带内弹性纤维与胶原表达

(Masson染色, $\times 20$)



组肥厚黄韧带中间部；图1F纤维化程度IV度，LSS组肥厚黄韧带背侧部，布满蓝色胶原。

2.3 LDH组与LSS组和LSS组内部不同解剖部位纤维化程度比较分析

见表2。LDH组与LSS组纤维化程度结果比较， $P=0.001$ ；对LDH组与LSS组内不同解剖部位比较结果显示，腹侧部纤维化程度对比 $P=0.011$ ，中间部 $P=0.029$ ，背侧部 $P=0.005$ ；LSS组内腹侧部和背侧部纤维化程度对比 $P=0.000$ 。结果均为 $P<0.05$ ，提示差异有显著性。

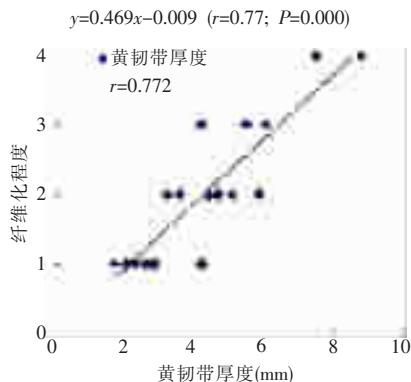
表2 两组患者黄韧带和增生肥厚黄韧带内部纤维化比较

| | 全部 | | 腹侧部 | | 中间部 | | 背侧部 | | LSS组 | |
|----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|----|
| | LDH | LSS | LDH | LSS | LDH | LSS | LDH | LSS | 腹侧 | 背侧 |
| 0级 | 4 | 1 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 1级 | 13 | 4 | 6 | 3 | 6 | 1 | 1 | 0 | 3 | 0 |
| 2级 | 8 | 11 | 0 | 5 | 3 | 5 | 5 | 1 | 5 | 1 |
| 3级 | 5 | 9 | 0 | 1 | 1 | 4 | 4 | 4 | 1 | 4 |
| 4级 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 5 |
| 合计 | 30 | 30 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 |
| P | 0.001 | | 0.011 | | 0.029 | | 0.005 | | 0.000 | |

2.4 黄韧带厚度与黄韧带纤维化程度相关性分析

将LSS组和LDH组的黄韧带厚度与其对应纤维化程度进行相关性分析，见图2。黄韧带纤维化评

图2 黄韧带厚度与纤维化相关性



分与黄韧带厚度两者呈显著正相关，黄韧带纤维化程度随黄韧带厚度增加而增加，相关系数 $r=0.77$, $P=0.000$ 。LSS组内部不同解剖部位与纤维化程度进行相关性分析见图3。增生肥厚黄韧带内部不同解剖部位，其厚度与纤维化呈显著正相关，黄韧带纤维化程度随黄韧带厚度增加而增加，从腹侧部、中间部至背侧部其相关系数 r 分别为 0.70、0.61、0.54, $P<0.01$ 。

2.5 偏振光显微镜下观察胶原表达

在偏振光显微镜下观察，I型胶原显示红色或黄色，III型胶原显示绿色见图4。图4A、4B分别显示LDH组腹侧部和背侧部，黄韧带内主要为I型、III型胶原，分布广泛，连接紧密呈波浪状排列；图4C、4D分别显示LSS组腹侧部和背侧部，黄韧带内胶原纤维松散排列，弥漫分布，结构紊乱，纤维结构增大增粗，I型和III型胶原夹杂，主要表现为I型胶原。

3 讨论

黄韧带肥厚是导致腰椎管狭窄的特征性病变之一。黄韧带占据椎管背侧约3/4面积，作为保持脊柱运动节段功能的结构之一，具有维持脊柱稳定等重

图3 增生肥厚黄韧带不同解剖部位与纤维化关系

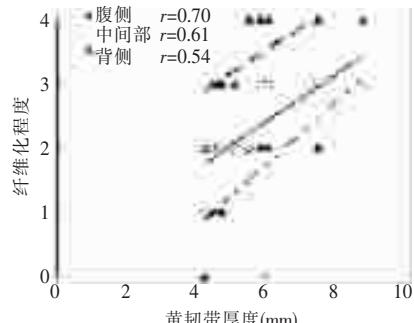
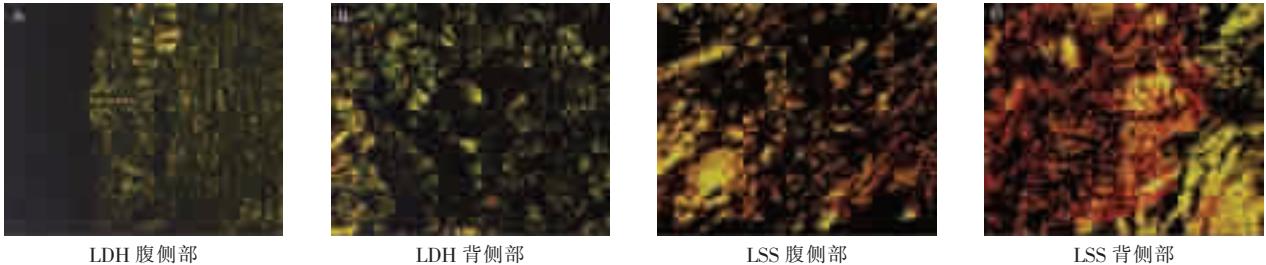


图4 偏振光显微镜下的胶原表达

(天狼猩红-偏振光染色)



要生理作用。正常的黄韧带主要由弹性纤维和胶原构成,弹性纤维具有很强的弹性,而胶原抗牵张力强。人类脊柱活动时,腰椎承受应力最高、活动度大以适应人类活动的需要,同时年龄增长和过度屈伸造成黄韧带损伤引起退变。黄韧带退变后,其弹性纤维明显减少,而胶原纤维却显著增加,甚至成为韧带的主要成分,因而黄韧带的弹性明显下降并且增生、肥厚,引起多种脊柱疾病如腰椎管狭窄。目前研究结果证实,腰椎不稳和年龄增长是导致黄韧带退变的两个主要因素^[10-12]。黄韧带背侧部、中间部和腹侧部在腰椎屈伸活动中所受牵拉力不同,超过腰椎正常活动度的过度屈伸引发黄韧带损伤导致的纤维化,是否会因内部解剖部位的差异而有不同,尚无相关文献报道。而避免韧带纤维化加重的正确腰椎功能锻炼方法,对于腰椎管狭窄患者康复尤为重要。因此在实验中,我们选取两组患者,首先在排除掉年龄因素的影响后,对LDH组和LSS组及LSS组内部纤维化进行病理学切片比较。

两组年龄无显著性差异的患者,黄韧带厚度存在显著差别。L4/5和L5/S1是腰椎最常发生退变的节段,因此两组患者均随机选取以上两个节段手术标本,经Masson染色后,发现LSS组弹性纤维明显减少,胶原表达增多,纤维化程度重;同时发现黄韧带背侧部、中间部、腹侧部产生的纤维化退变程度也不相同。在腰椎过度屈伸活动中,背侧部受力最大,腹侧部受到牵拉力最小,牵拉造成黄韧带损伤,在损伤修复过程中,黄韧带形成瘢痕组织,进而增生、肥厚^[6]。通过对这三个解剖部位的分别研究,我们发现黄韧带背侧部的弹性纤维减少最明显,基本全部被蓝色胶原纤维填充,并且胶原纤维为团块状、扭曲状,聚集于背侧部,纤维化程度最严重;而LDH组黄韧带结构致密,由互相平行排列紧密的弹力纤维构成,弹力纤维彼此有分支相互联结成网,其间夹杂少量胶原。实验证明,肥厚黄韧带背侧部是脊柱牵拉活动后瘢痕损伤修复的最严重区域,纤维化程度最高;胶原表达增加,瘢痕反应加重,导致黄韧带厚度增加,在腹侧部、中间部、背侧部纤维化程度均与韧带厚度的相关性分析中,进一步证实了纤维化程度与黄韧带厚度呈显著正相关。

胶原的变化贯穿于组织修复的全过程,对胶原

纤维的研究可加深对创伤愈合的认识,对胶原纤维的鉴定有利于继续探索影响胶原变化的因素^[13]。正常黄韧带由I型、III型胶原构成,而II型胶原主要表达于钙化、骨化的韧带中。不同胶原纤维在偏振光显微镜下则显示不同的颜色,利用此原理对胶原蛋白的类型做出估计^[14]。实验观察到黄韧带内部清晰地显示出I型、III型胶原。与正常黄韧带相比,增生肥厚黄韧带背侧部,I型胶原表达增多,结构紊乱呈团块状分布,说明导致韧带纤维化的主要原因是I型胶原,而I型胶原在抵抗组织过度牵张过程中起到了主要作用。

黄韧带是维持腰椎稳定的被动支持系统,黄韧带肥厚导致张力下降,造成脊柱稳定性下降^[15-16],通过锻炼脊柱局部肌肉可恢复腰椎平衡稳定^[17-19];本研究发现,超出脊柱正常活动范围的力学刺激会加重黄韧带纤维化,因此,方法不当的腰椎康复运动会影响增加黄韧带厚度从而加重腰椎管狭窄的症状。在日常活动中,应避免弯腰负重;在运动中,应选择脊柱医疗体操、全身有氧运动如步行和游泳、全身协调性练习如太极拳和交谊舞、健身操等^[15],达到维持脊柱稳定治疗腰痛的目标。

年龄、腰椎不稳、生长因子及炎性因子等因素均参与了胶原增多导致黄韧带退变的过程^[20],因此,其治疗是一个复杂的过程。腰椎管狭窄患者进行保守治疗、术后康复锻炼腰背肌功能,其主要目的是增加脊柱的稳定性,恢复腰椎生理曲度和活动度,从而减轻症状和恢复腰椎的功能^[21],而正确的康复锻炼方法是患者恢复健康的前提^[22-23]。本研究为避免过度屈伸腰椎活动康复治疗腰椎管狭窄提供了理论依据,但调控黄韧带内I型和III型胶原过度表达的因素尚待深入研究。

参考文献

- [1] 左伟,张希彦,李国强,等.后路椎间盘镜治疗腰椎管狭窄症的疗效观察[J].中国康复医学杂志,2004,19(2):136.
- [2] 张洲,黄真.腰痛康复治疗的新观念—脊柱节段性稳定性训练[J].中国康复医学杂志,2008,23(3):279—282.
- [3] 陈岚岚,王健.腰痛运动治疗研究进展[J].中国康复医学杂志,2008,23(3):276—279.
- [4] Andersson GBJ. The epidemiology of spinal disorders, in Frymoyer JW(ed):The Adult Spine:Principles and Practice[M].ed 2. Philadelphia, Lippincott-Raven,1997,93—141.
- [5] Park JB, Lee JK, Park SJ, et al. Hypertrophy of ligamentum flavum in lumbar spinal stenosis associated with increased proteinase inhibitor concentration [J]. J Bone Joint Surg Am, 2005,87(12):2750—2757.

- [6] Sairyo K, Biyani A, Goel VK, et al. Pathomechanism of ligamentum flavum hypertrophy:a multidisciplinary investigation based on clinical,biomechanical,histologic and biologic assessments[J]. Spine,2005,30(23):2649—2656.
- [7] Sakamaki T,Sairyo K,Sakai T,et al. Measurements of ligamentum flavum thickening at lumbar spine using MRI[J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2009,129(10):1415—1419.
- [8] Park JB, Chang H, Lee JK. Quantitative analysis of transforming growth factor -beta 1 in ligamentum flavum of lumbar spinal stenosis and disc herniation[J].Spine,2001,26:492—495.
- [9] Koichi Sairyo, Ashok Biyani, Vijay K, et al. Lumbar ligamentum flavum hypertrophy is due to accumulation offlammation-related scar tissue[J]. Spine,2007,32:340—7.
- [10] Fukuyama S, Nakamura T, Ikeda T, et al. The effect of mechanical stress on hypertrophy of the lumbar ligamentum flavum[J].J Spinal Disord,1995, 8(2):126—130.
- [11] Postacchini F, Gumina S, Cinotti G, et al. Ligamenta flava in lumbar disc herniation and spinal stenosis. Light and electron microscopic morphology[J]. Spine,1994,19(8):917—922.
- [12] Schräder P, Grob D, Rahn BA, et al. Histology of the ligamentum flavum in patients with degenerative lumbar spinal stenosis[J]. Eur Spine J, 1999,8(4):323—328.
- [13] Antonicelli F, Bellon G, Lormier S, et al. Role of the elastin receptor complex (S-Gal/Cath-A/Neu-1) in skin repair and regeneration[J]. Wound Repair Regen,2009,17(5):631—638.
- [14] Wang HQ, Li XK, Wu ZX, et al. The effect on the extracellular matrix of the deep fascia in response to leg lengthening [J]. BMC Musculoskelet Disord,2008,9:101.
- [15] 邱平. 老年人腰痛的康复治疗对策 [J]. 中国康复医学杂志 , 2009,24(11):1049—1051.
- [16] 郑联合,马保安,王育才,等.老年人椎间盘突出症术后的康复治疗[J].中国康复医学杂志,2003,18(11):662—663,669.
- [17] 余秋华,王于领,王楚怀.本体感觉与慢性腰痛的康复治疗[J].中国康复医学杂志,2007,22(10):947—950.
- [18] 陈庆贺,姜洪和,王长纯,等.早期主动训练对椎间盘突出症术后康复的意义[J].中国康复医学杂志,2001,16(4):240—241.
- [19] 陈裔英,朱光,吕华,等.腰背肌训练加牵引治疗椎间盘突出症[J].中国康复医学杂志,2004,19(2):133—134.
- [20] Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, et al. Growth factors and cytokines in wound healing[J]. Wound Repair Regen, 2008,16(5):585—601.
- [21] Bodack MP, Monteiro M. Therapeutic exercise in the treatment of patients with lumbar spinal stenosis [J]. Clin Orthop Relat Res, 2001, (384):144—152.
- [22] Eilers K, Schenk M, Putzier M, et al. Use of peridural catheters in the treatment of postoperative pain after spinal instrumented fusion—an experience report [J]. Z Orthop Ihre Grenzgeb, 2002,140(6):621—625.
- [23] 陈苗,吕厚山,刘海鹰.不同术式治疗短节段腰椎管狭窄症效果随访分析[J].中国康复医学杂志,2008,23(9):799—802.

