

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.21.022

[http://www.crter.org]

阴彦斌, 李放, 赵广民, 张昌猛. 人工硬脊膜对腰椎手术后血液及引流液中炎症因子的影响[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(21):3960-3967.

人工硬脊膜对腰椎手术后血液及引流液中炎症因子的影响★

阴彦斌^{1,2}, 李放¹, 赵广民¹, 张昌猛¹

1 北京军区总医院全军创伤骨科研究所, 北京市 100700

2 山西医科大学第二临床医学院, 山西省太原市 030001

文章亮点:

- 1 通过前瞻性的临床研究, 从人工硬脊膜应用前后血液和引流液中炎症因子白细胞介素 1 β 、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子 α 浓度变化的角度出发, 探讨人工硬脊膜对局部炎症反应的影响。
- 2 试验使用的人工生物膜主要材料是 I 型胶原支架, 可以促进移植物迅速融合于宿主组织中, 具备有利于成纤维细胞长入的三维孔隙, 为促进硬膜缺损修复起到良好的桥接作用, 并为暴露的硬脊膜提供了一个密闭环境。
- 3 试验结果证实人工脊柱膜可以降低腰椎术后局部白细胞介素 1 β 、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子 α 的浓度, 但还需长时间的观察随访。

关键词:

生物材料; 生物材料基础实验; 膜生物材料; 腰椎术后; 人工硬脊膜; 炎症因子; 引流液; 白细胞介素 1 β ; 白细胞介素 6; 肿瘤坏死因子 α

摘要

背景: 研究已证实人工脊柱膜预防腰椎手术后瘢痕形成具有很好的临床效果, 但是否可以减少腰椎手术后炎症因子释放目前还不明确。

目的: 探讨人工硬脊膜对腰椎术后血液及引流液中炎症因子质量浓度的影响。

方法: 选择 2012 年 3 至 7 月北京军区总医院全军创伤骨科研究所收治的 40 例腰椎间盘突出伴椎管狭窄患者, 均行腰椎后路减压、椎间盘摘除、椎间植骨融合内固定; 按抽签方法随机分为 2 组, 使用人工硬脊膜者为试验组, 未使用人工脊柱膜者为对照组, 另纳入 10 名健康志愿者为空白对照组。检测 3 组手术前、手术后第 2, 3 天血液标本白细胞介素 1 β 、白细胞介素 6 及肿瘤坏死因子 α 的质量浓度; 采用酶联免疫吸附实验检测试验组、对照组术后第 1, 2, 3 天引流液中白细胞介素 1 β 、白细胞介素 6 及肿瘤坏死因子 α 的质量浓度。

结果与结论: ①引流液: 试验组手术后不同时间点 3 种炎症因子水平均显著低于对照组($P < 0.05$), 且试验组患者未发现发热、过敏、异物排斥等不良反应, 引流量明显少于对照组($P < 0.05$)。②血液: 试验组术后第 3 天白细胞介素 1 β 、肿瘤坏死因子 α 的质量浓度明显低于对照组($P < 0.05$), 两组各时间点白细胞介素 1 β 、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子 α 质量浓度均明显高于空白对照组($P < 0.05$)。表明应用人工硬脊膜可以降低腰椎术后引流液中白细胞介素 1 β 、白细胞介素 6、肿瘤坏死因子 α 的质量浓度, 同时对外周血炎症因子质量浓度有轻度降低作用。

Effects of artificial dura on inflammation factor concentrations in blood and drainage fluid after lumbar surgery

Yin Yan-bin^{1,2}, Li Fang¹, Zhao Guang-min¹, Zhang Chang-meng¹

1 Institute of Orthopedics and Traumatology, General Hospital of Beijing Military Area Command of Chinese PLA, Beijing 100700, China

2 Second Clinical College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

阴彦斌★, 男, 1984 年生, 汉族, 山西医科大学在读硕士, 医师, 主要从事脊柱外科研究。
yybxjj@163.com

通讯作者: 李放, 教授, 北京军区总医院全军创伤骨科研究所, 北京市 100700
fangl6722@vip.sina.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 2095-4344
(2013)21-03960-08

收稿日期: 2013-02-04
修回日期: 2013-02-16
(20121130008/GW·Q)

Yin Yan-bin★, Studying for master's degree, Physician, Institute of Orthopedics and Traumatology, General Hospital of Beijing Military Area Command of Chinese PLA, Beijing 100700, China; Second Clinical College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
yybxjj@163.com

Corresponding author: Li Fang, Professor, Institute of Orthopedics and Traumatology, General Hospital of Beijing Military Area Command of Chinese PLA, Beijing 100700, China
fangl6722@vip.sina.com

Received: 2013-02-04
Accepted: 2013-02-16

Abstract

BACKGROUND: Research has shown that artificial dura applied for prevention and reduction of lumbar postoperative scarring has achieved good results, but whether it can reduce the releasing of inflammatory cytokines after lumbar surgery is not clear at present.

OBJECTIVE: To explore the effects of artificial dura on concentration of inflammation factors in blood and drainage fluid after lumbar surgery.

METHODS: A total of 40 patients with prolapse of lumbar intervertebral disc and lumbar spinal stenosis in the Institute of Orthopedics and Traumatology, General Hospital of Beijing Military Area Command of Chinese PLA between March and July 2012, who underwent posterior lumbar decompression, intervertebral disk removal and intervertebral fusion internal fixation, were selected. They were randomly assigned to two groups. Patients using the artificial dura were considered as the experimental group, while the others were considered as the control group. In addition, an additional 10 healthy volunteers were tested as the blank control group. The concentrations of interleukin-1 β , interleukin-6 and tumor necrosis factor- α in the blood samples were determined before surgery, at 2 and 3 days following surgery in the three groups. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to measure mass concentrations of interleukin-1 β , interleukin-6 and tumor necrosis factor- α in drainage fluid at 1, 2 and 3 days after surgery in the experimental and control groups.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Drainage fluid: the concentration of interleukin-1 β , interleukin-6 and tumor necrosis factor- α at different time points in experimental group was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$), and there were no fever, allergies or foreign body rejection in the experimental group. Patients in experimental group had a less oozing compared with the control group ($P < 0.05$). (2) Blood: the concentrations of interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α were significantly lower in the experimental group than those in the control group at 3 days ($P < 0.05$). The concentrations of interleukin-1 β , interleukin-6 and tumor necrosis factor- α in the experimental and control groups were significantly higher than those in the blank control group at various time points ($P < 0.05$). These results suggested that artificial dura can reduce the concentrations of interleukin-1 β , interleukin-6 and tumor necrosis factor- α after lumbar surgery in fluid drainage, and slightly decrease the concentrations of inflammatory factors in peripheral blood.

Key Words: biomaterials; basic experiments of biomaterials; membrane biomaterials; lumbar postoperation; artificial dura; inflammation factor; drainage fluid; interleukin-1 beta; interleukin-6; tumor necrosis factor-alpha

Yin YB, Li F, Zhao GM, Zhang CM. Effects of artificial dura on inflammation factor concentrations in blood and drainage fluid after lumbar surgery. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(21): 3960-3967.

0 引言

椎板切除是骨科和神经外科常见的手术方式, 由于术后硬膜外露, 缺乏适当的软组织覆盖, 容易引起硬膜外粘连及瘢痕形成, Fayad等^[1]认为硬膜外瘢痕来源于破裂的纤维环, 此后Peng等^[2]提出了瘢痕形成后源学说, 即“椎板切除膜理论”, 术后瘢痕组织形成所致的硬膜及神经根粘连受压一直是影响术后疗效的重要因素^[3-4], 多年来许多研究人员一直在探索一种符合机体微环境的人工隔离物来预防和减少硬膜外渗出及瘢痕组织形成。人工硬脊膜应用提供了一个简单可行的方法^[5-6]。

而关于生物膜预防术后瘢痕形成已经有了大量研究, 并取得满意的成果, 但随着研究进展发现, 退变性椎间盘内存在炎症因子^[7-8], 主要有白细胞介素1 β 、白细胞介素6、肿瘤坏死因子 α ^[9-10], 手术摘除突出的髓核后残留部分释放炎症因子, 引起局部炎症反应, 易导致术后感染、发热、局部长疼痛不适等症状。试验通过前瞻性的临床研究, 从人工硬脊膜应用前及应用后血液和引流液中炎症因子白细胞介素1 β 、白细胞介素6、肿瘤坏死因子 α 水平变化的角度出发来探讨人工硬脊膜对局部炎症反应的影响。

1 对象和方法

设计: 随机对照研究。

时间及地点: 于2012年3至7月在北京军区总医院骨科及北京军区总医院全军创伤骨科研究所完成。

对象:

腰椎间盘突出伴腰椎管狭窄疾病诊断标准: ①间歇性跛行: 患者步行一二百米后, 或站立约数分钟或10 min即感到一侧或两侧小腿和足部出现疼痛、麻木、酸胀和无力, 以致不能继续行走, 必须蹲下或弯腰休息片刻后方可行走, 但走不久上述症状再次出现。②症状: 有腰腿伴下肢放射痛, 腿痛较腰腿严重, 双下肢麻木、无力等。③体格检查: 双侧跟、膝腱反射减退, 足跟外侧、足部感觉异常。直腿抬高试验及腰部后伸实验均为阳性。④影响学检查: X射线见腰椎生理曲度变直, 椎间隙变窄, 周围可见骨质增生, X射线前屈后伸位可见椎体不稳; 腰椎MRI见: 腰椎间盘突出, 椎管矢径变小, 中央椎管、侧隐窝狭窄及黄韧带肥厚, 并且受累节段与神经根的临床症状和体征相符合。

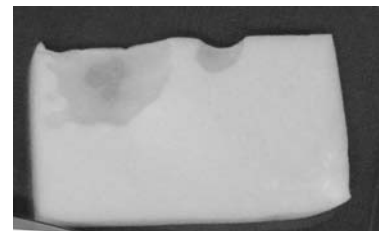
病例纳入标准: 所有患者均符合上述诊断标准方可纳入试验; 排除患有糖尿病、腰椎结核、外伤、肿瘤、感染等影响炎症因子变化的疾病。

选择2012年3至7月解放军北京军区总医院骨科收治的40例腰椎间盘突出伴腰椎管狭窄疾病患者, 年龄在40-60岁之间, 性别比例1:1。由第三者按照抽签方法随机分为2组, 均行腰椎后路减压、椎间盘摘除、椎间植骨融合内固定: 使用人工硬脊膜者为试验组, 其中男7例, 女13例, 平均年龄47.7岁; 未使用人工脊柱膜者为对照组, 其中男9例, 女11例, 平均年龄52岁。

健康对照: 另选取10名健康志愿者作为空白对照组, 其中男5例, 女5例, 平均年龄50岁; 健康志愿者无椎间盘突出伴椎管狭窄的症状及体征, 无糖尿病、腰椎结核、外伤、肿瘤、感染等疾病。

人工硬脊膜材料: 试验使用北京天新福医疗器械有限公司生产的人工生物膜, 见图1, 主要材料是I型胶原支架, 是应用组织工程原理构建的产品, 胶原支架的一个重要特点是它本身的三维孔隙结构, 成纤维细胞可以通过孔隙或支架样结构渗透到材料中。胶原支架不仅具有成纤维细胞的亲合性, 也可以为后面新胶原沉积提供支架, 这些理论在动物实验中得到了验证。胶原纤维本身有趋化成纤维细胞的作用可以促进移植物迅速融合于宿主组织中, 具备有利于成纤维细胞长入的三维孔隙, 为促进硬膜缺损修复起到良好的桥接作用, 在3个月左右衍生出具有疏松结缔组织功能特点的新硬膜, 同时伴有滋养血管的长入, 结合术野中来自血液的纤维蛋白原, 更好地与周边硬膜贴合紧密, 为暴露的硬脊膜提

供了一个密闭环境, 可明显减少渗出及创口渗液对神经根的刺激, 同时也明显降低了手术感染风险。由于其没有免疫反应, 具有一定的强度和韧性、良好的组织相容性、可降解性, 在修复过程中自体组织细胞介入, 促使自体成纤维细胞及某些未分化的细胞向胶原内部浸润生长, 分泌自体胶原及相应的糖类, 并依赖其结构再生自体相同的组织, 从而达到损伤修复和组织功能重建, 最终形成新的硬脊膜, 能有效减少硬膜外瘢痕的形成, I型胶原蛋白支架材料本身能随着新硬膜衍生而逐渐降解为氨基酸被细胞吸收, 由于易于操作和使用, 已逐渐用于临床, 并得到广泛的研究。



注: 主要材料是I型胶原支架, 是应用组织工程原理构建的产品, 胶原支架的一个重要特点是它本身的三维孔隙结构, 成纤维细胞可以通过孔隙或支架样结构渗透到材料中。

图1 北京天新福医疗器械有限公司提供的人工硬脊膜
Figure 1 Artificial dura provided by Beijing Tianxinfu Medical Appliance Co., Ltd.

人工硬脊膜对腰椎术后血液及引流液中炎症因子浓度影响试验的主要试剂及仪器:

Main reagents and instruments:

试剂及仪器	来源
白细胞介素 1 β 酶联免疫吸附实验试剂盒、白细胞介素 6 酶联免疫吸附实验试剂盒、肿瘤坏死因子 α 酶联免疫吸附实验试剂盒	北京凯诺春天生物科技有限公司
电热恒温箱	黄石市恒丰医疗器械有限公司
高速台式离心机	长沙箱仪离心机仪器有限公司
酶标仪	美国 BIO-RAD680

干预方法:

腰椎手术: 术前两组患者常规检查, 心肺功能检查完善后, 术前12 h禁食, 术前4 h禁水, 所有患者均在全麻下手术, 患者俯卧位于脊柱手术托架上, 手术取后正中切口, 常规消毒、铺无菌单, 小心剥离软组织, 显露双

侧椎板, 采用“人字峰顶点法”并根据术前X射线及CT表现^[11], 确定双侧椎弓根螺钉进针点及进针角度, 开路器沿椎弓根进入椎体, 探针探查骨道见四周全为骨壁后, 拔出探针插入定位针, C型臂透视见位置满意, 小心拧入椎弓根螺钉, 棘突剪咬去棘突, 椎板咬骨钳咬去椎板, 使椎板完全减压, 显露硬脊膜及相应节段双侧神经根, 松解粘连的神经根, 髓核钳摘除病变髓核, 植入人工骨块, 连接椎弓根固定系统, 植入人工硬脊膜于椎板切除位置, 见图2, 确定放置好后不能再次移动, 无须缝合, 见图3, 切口放置一根引流管, 术毕缝合伤口。收集术前、术后第2, 3天的血液标本及术后第1, 2, 3天的引流液标本并记量。



图2 腰椎间盘突出伴腰椎管狭窄患者椎板切除后暴露的硬脊膜

Figure 2 Exposed spinal dural after laminectomy in patients with prolapse of lumbar intervertebral disc and lumbar spinal stenosis

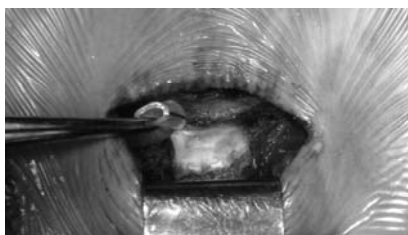


图3 人工硬脊膜封闭腰椎间盘突出伴腰椎管狭窄患者暴露的硬膜囊

Figure 3 The exposed dural sac closed by artificial dural in patients with prolapse of lumbar intervertebral disc and lumbar spinal stenosis

术后处理: 所有患者术后均给予常规抗生素预防感染, 吸氧, 心电监护等常规护理, 如果术后出现并发症不纳入试验, 试验组使用人工硬脊膜, 对照组不使用。

标本处理及检测: 血液以3 000 r/min, 离心10 min, 离心半径15 cm, 取上层血清; 引流液采用差速离心法,

均离心15 min, 首次离心1 500 r/min, 离心半径15 cm, 取上清, 再以3 500 r/min离心, 离心半径15 cm, 取上清。所取标本均置于1 mL EP管, -80 °C冰箱冻存。

炎症因子检测: 待标本收集完毕, 取出标本EP管, 常温下融化, 为避免标本放置时间较长影响检测结果, 每次检测20个标本, 同时检测3种炎症因子。使用前室温平衡20 min, 设计标准品孔、样本孔、空白孔, 标准品孔按次序各加不同浓度的标准品50 μL; 样本孔先加待测样本10 μL, 再加样本稀释液40 μL, 空白孔不加; 除空白孔外, 标准品孔和样本孔中每孔加辣根过氧化物酶标记的检测抗体100 μL, 用封板膜封住反应孔, 37 °C恒温箱温育60 min; 弃去液体, 吸水纸上拍干, 每孔加满洗涤液, 静置1 min, 甩去洗涤液, 吸水纸拍干, 如此重复5次, 洗涤液用洗涤缓冲液与蒸馏水1:19配制; 每孔加入底物A、B各50 μL, 37 °C避光孵育15 min。每孔加入终止液50 μL, 15 min内在450 nm波长处测定各孔的A值, 未用完试剂盒置于4 °C冰箱保存, 待下次检测使用, 所有标本在3 d内检测完毕。

红细胞数量: 术前、术后第1, 2, 3天检测试验组与对照组红细胞数量, 观察人工脊柱膜是否可以减少红细胞渗出。

主要观察指标: 各组引流液及血液中白细胞介素1β、白细胞介素6、肿瘤坏死因子α水平, 引流总量及红细胞数值。

统计方法: 采用SPSS 17.0软件包对数据进行统计学分析。计量资料采用独立样本t 检验。检验水准: $P < 0.05$ 时为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 参与者数量分析 40例患者及10名健康对照均进入结果分析。

2.2 基线资料比较 试验组与对照组平均年龄、性别比例接近, 均无其他疾病, 两组具有可比性。

2.3 各组血液及引流液标本炎症因子检测结果 引流液中试验组、对照组样本3种炎症因子质量浓度见表1, 统计结果显示两组之间炎症因子浓度差异有显著性意义($P_{IL-1\beta}=0$ 、 $P_{IL-6}=0$ 、 $P_{TNF-\alpha}=0$), 试验组各炎症因子质量浓度显著低于对照组, 分别比较组内实验组、对照组术后第1, 2, 3天引流液炎症因子水平, 差异均无显著性意义($P > 0.05$)。

表 1 试验组与对照组术后连续 3 d 引流液中 3 种炎症因子水平的比较

Table 1 Comparison of levels of three kinds of inflammatory factors in drainage fluid in consecutive 3 d after surgery in the experimental and control groups

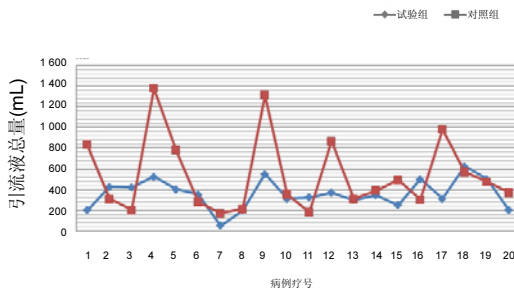
($\bar{x}\pm s, n=20, \text{ng/L}$)

组别	时期	白细胞介素 6	白细胞介素 1 β	肿瘤坏死因子 α
试验组	术后第1天	14.95 \pm 1.87 ^a	11.40 \pm 1.44 ^a	12.35 \pm 1.63 ^a
	术后第2天	17.00 \pm 2.46 ^a	13.60 \pm 1.64 ^a	15.42 \pm 2.03 ^a
	术后第3天	18.91 \pm 2.99 ^a	15.20 \pm 2.57 ^a	19.60 \pm 2.78 ^a
对照组	术后第1天	26.40 \pm 1.64	24.75 \pm 2.07	28.90 \pm 1.89
	术后第2天	25.49 \pm 1.52	24.45 \pm 2.07	28.85 \pm 1.79
	术后第3天	29.30 \pm 2.18	24.34 \pm 1.46	33.74 \pm 2.36

与同期对照组比较, ^a $P < 0.05$ 。

注: 40 例腰椎间盘突出伴腰椎管狭窄患者, 均行腰椎后路减压、椎间盘摘除、椎间植骨融合内固定; 按抽签方法随机分为使用人工硬脊膜者为试验组和未使用人工脊柱膜的对照组; 试验组术后 1-3 d 引流液中炎症因子水平均低于对照组。

对照组平均引流量为(538 \pm 366) mL, 试验组平均引流量为(346 \pm 142) mL, 两组比较差异有显著性意义($P=0.029$), 引流液总量变化详见图4, 其中试验组未出现发热、过敏、异物排斥等不良反应, 且标本颜色明显较对照组淡, 见图5。



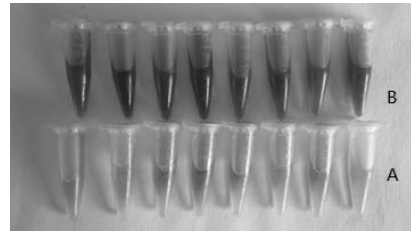
注: 40 例腰椎间盘突出伴腰椎管狭窄患者, 均行腰椎后路减压、椎间盘摘除、椎间植骨融合内固定; 按抽签方法随机分为 2 组, 使用人工硬脊膜者为试验组, 未使用人工脊柱膜者为对照组; 试验组总体引流液量低于对照组($P=0.029$)。

图 4 试验组与对照组术后引流液总量结果

Figure 4 Results of total amount of drainage fluid after surgery in the experimental and control groups

3组血液炎症因子质量浓度变化详见表2, 统计结果显示试验组、对照组之间术后第2, 3天肿瘤坏死因子 α 、术后第3天白细胞介素1 β 比较, 差异有显著性意义($P_{\text{TNF-}\alpha}=0.027, P_{\text{TNF-}\alpha}=0.022, P_{\text{IL-1}\beta}=0.02$), 两组炎症因子水平与空白对照组比较差异均有显著性意义($P <$

0.05)。



注: 40 例腰椎间盘突出伴腰椎管狭窄患者, 均行腰椎后路减压、椎间盘摘除、椎间植骨融合内固定; 按抽签方法随机分为 2 组, 使用人工硬脊膜者为试验组, 未使用人工脊柱膜者为对照组; 可见试验组颜色明显较对照组淡。

图 5 试验组与对照组引流液标本大体观察

Figure 5 General view of drainage fluid specimens in the experimental and control groups

表 2 试验组、对照组与空白对照组术后不同时间点血液中 3 种炎症因子水平的比较

Table 2 Comparison of levels of three kinds of inflammatory factors in blood at various time points after surgery in the experimental, control and blank control groups

($\bar{x}\pm s, \text{ng/L}$)

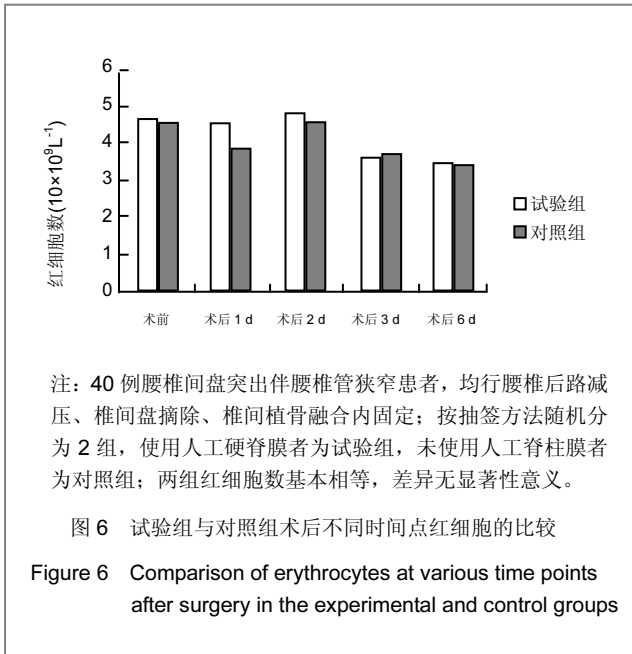
组别	n	时期	白细胞介素 6	白细胞介素 1 β	肿瘤坏死因子 α
试验组 (n=20)		术后第1天	18.75 \pm 1.87 ^a	21.55 \pm 2.74 ^a	21.65 \pm 2.03 ^a
		术后第2天	17.30 \pm 1.76 ^a	18.80 \pm 1.92 ^a	20.00 \pm 1.45 ^{ab}
		术后第3天	17.05 \pm 2.42 ^a	17.05 \pm 2.22 ^{ab}	19.15 \pm 1.63 ^{ab}
对照组 (n=20)		术后第1天	18.78 \pm 2.05 ^a	22.50 \pm 2.41 ^a	25.35 \pm 2.50 ^a
		术后第2天	19.05 \pm 1.96 ^a	22.80 \pm 2.07 ^a	25.05 \pm 1.98 ^a
		术后第3天	21.20 \pm 2.14 ^a	24.35 \pm 2.43 ^a	26.90 \pm 2.34 ^a
空白对照组 (n=10)			10.74 \pm 1.65	7.75 \pm 1.26	15.35 \pm 1.86

与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与同期对照组比较, ^b $P < 0.05$; 试验组和对照组各时间点炎症因子水平高于空白对照组, 对照组则高于试验组。

注: 40 例腰椎间盘突出伴腰椎管狭窄患者, 均行腰椎后路减压、椎间盘摘除、椎间植骨融合内固定; 按抽签方法随机分为 2 组, 使用人工硬脊膜者为试验组, 未使用人工脊柱膜者为对照组; 空白对照组为健康对照。

2.4 试验组与对照组术后不同时间点红细胞数的比较 见图6。

2.5 不良反应 试验组患者均未发生发热反应、过敏反应、排斥反应。



3 讨论

退变髓核内炎症因子白细胞介素 1β ^[12]、白细胞介素 6 ^[13]、肿瘤坏死因子 α 的质量浓度均较正常明显升高^[14], 是导致椎间盘退变主要原因之一。Seguin等^[15]通过体外培养髓核组织观察不同剂量肿瘤坏死因子 α 对椎间盘髓核基因表达的变化, 结果发现蛋白多糖和II型胶原基因表达明显下降, 同时基质金属蛋白酶的基因表达明显增加, 表明肿瘤坏死因子能诱导椎间盘退变的发生; Thomas等^[16]发现白细胞介素 1β 能刺激髓核细胞分泌前列环素 2 和基质金属蛋白酶, 加速髓核基质中蛋白多糖和II型胶原的降解, 并抑制蛋白多糖和III型胶原的合成, 改变和破坏髓核细胞周围环境, 促进髓核细胞的凋亡; 白细胞介素 6 也是重要的炎症促进剂, 可刺激炎症细胞聚集, 激活炎症递质的释放, 促进腰椎间盘退变的炎症过程。白细胞介素 6 可能通过调节免疫细胞功能而促进椎间盘自身免疫反应。

试验中退变的椎间盘已通过手术摘除, 但研究发现引流液中仍可检测到炎症因子, 考虑是由于椎间盘摘除不彻底, 残余椎间盘炎症因子大量渗出, 术中微环境破坏, 脊柱生物力学改变, 局部出血、水肿炎症刺激反应等原因引起。郑月焕等^[17]研究结果示退变髓核中白细胞介素 1β 、白细胞介素 6 、肿瘤坏死因子 α 分别为 136.56 、 75.71 、 338.45 ng/L, 是试验引流液中炎症因子浓度的 $4-10$ 倍, 考虑与引流液的稀释作用及髓核内局部高浓度

的炎症因子有关, 有研究发现在退变和突出椎间盘中白细胞介素 1β 及其受体高表达, 而且比肿瘤坏死因子 α 表达量高, 证实虽然两种炎症因子均参与椎间盘退变, 白细胞介素 1β 可能在加速椎间盘退变过程中更有意义^[18]。试验显示试验组、对照组术后不同时期肿瘤坏死因子 α 的浓度均大于白细胞介素 1β , 且肿瘤坏死因子 α 浓度变化幅度最大。近期研究表明肿瘤坏死因子 α 被称为“前炎症递质”, 其合成可显著促进白细胞介素 1β 、白细胞介素 6 的表达。Jimbo等^[19]发现在椎间盘组织中肿瘤坏死因子 α 可以刺激白细胞介素 1β 、白细胞介素 6 的含量升高, 对其本身形成“正反馈”机制循环, 在3种炎症因子变化中, 肿瘤坏死因子 α 是始动因子产生炎症反应。试验中突出的椎间盘摘除后, 局部微环境改变, 局部炎症反应发生变化, 引起炎症因子浓度及分布的变化, 肿瘤坏死因子 α 作为前炎症递质变化最大, 相继引起其他炎症因子发生改变, 引起椎间盘退变的机制非常复杂, 目前研究尚不清楚, 大量研究表明椎间盘退变与炎症因子密切相关, 作者认为应该从总体因素及相互关系分析炎症因子对椎间盘退变的影响。

试验使用的人工硬脊膜是三维孔隙结构, 在术后早期可有效吸收渗出, 而不增加自身体积, 在吸收饱和后渗出液可以自由通过, 随着渗出液减少, 成纤维细胞可以通过孔隙或支架样结构渗透到材料中, 胶原纤维本身有趋化成纤维细胞的作用可以促进移植物迅速融合于宿主组织中, 胶原支架也可以为后面新胶原沉积提供支架, 随之来自术野及破坏的毛细血管中的血液缓慢渗入, 血液在硬脊膜中凝固, 从而封闭了缺损的椎板、减少了出血, 结合术野中来自血液的纤维蛋白原与周围组织的结合, 更好地与周边组织紧密贴合, 因此为暴露的硬脊膜提供了一个密闭环境, 可明显减少渗出及炎症因子释放, 而不引起椎管内压力增高。试验中试验组引流液颜色明显较对照组淡, 且引流量亦较对照组少, 考虑手术部位人工硬脊膜吸收渗出液中纤维蛋白并与组织结合, 使渗出液中成纤维细胞、血细胞等含量减少, 引起试验组引流液颜色变淡及引流量少, 提示脊柱膜对血液中血细胞变化, 虽然统计结果无统计学意义, 但术后当日和次日红细胞计数试验组高于对照组, 提示与人工脊柱膜应用可以有效止血有关, 术后第 3 、 6 天无明显差别, 不排斥补液及患者恢复等多种因素的影响。脊柱膜可以结合术部渗出的纤维蛋白来增加与周围组织的密闭性, 提示试验组引流液中纤维蛋白含量应低于对照组, 但试验未检测引流液中纤维蛋白含量, 此为试验不

足, 待日后研究中加以完善。

试验结果示引流液中试验组、对照组炎症因子比较差异有显著性意义, 术后试验组引流液中炎症因子浓度稳定增加、变化幅度小, 且试验组各炎症因子间浓度相互接近, 对照组炎症因子浓度无规律增加, 且幅度变化较大, 与人工硬脊膜的过滤及屏障作用有密切关系, 加之人工硬脊膜减少渗出的作用, 可以考虑应用人工硬脊膜来修补术后椎板缺损。

对于腰椎间盘突出患者, 外周血中白细胞介素 1β 、白细胞介素6、肿瘤坏死因子 α 通过何种机制产生尚不明确。正常椎间盘内血管只分布到纤维环外三分之一^[20], 所以未退变的椎间盘炎症因子释放入血少, Kato等^[21]认为椎间盘退变组织中巨噬细胞内在活动增加, 刺激产生炎症因子, 使血管生成诱导因子如血管内皮生长因子、基质金属蛋白酶3、基质金属蛋白酶7及血浆酶的产生, 从而使蛋白多糖减少, 椎间盘组织被吸收, 退变椎间盘的髓核部位有新生血管长入, 而局部高浓度的肿瘤坏死因子 α 可引起血管通透性增加^[22], 诱导白细胞介素6产生^[23-26], 促进炎症因子入血, 引起外周血炎症因子浓度升高, Werler等^[24]研究表明肿瘤坏死因子 α 阳性细胞在胎儿、婴幼儿、成年人和老年人均有表达, 其中在椎间盘突出者和老年人表达尤为显著, 认为肿瘤坏死因子 α 参与了退变过程, 并且是退变的关键因子。试验结果显示血液中试验组、对照组分别与空白对照组比较, 白细胞介素 1β 、白细胞介素6、肿瘤坏死因子 α 的浓度均明显升高, 差异有显著性意义, 与上述研究结果相符, 考虑可以用外周血炎症因子浓度的变化反映退变髓核局部炎症情况, 但外周血炎症因子浓度影响因素较多, 如术中及术后的补液、药物及饮食等, 导致血液中炎症反应变化较缓慢, 在炎症反应中肿瘤坏死因子 α 作为前炎症递质可诱导白细胞介素 1β 、白细胞介素6的生成, 提示首先引起变化的是肿瘤坏死因子 α 。试验血液中试验组、对照组炎症因子结果分析: 炎症因子在血液中变化明显较在引流液中变化缓慢, 且受到血液中多种缓冲及调节因素作用, 变化不明显。两组与空白对照组比较, 各炎症因子变化均有统计学意义, 在排除腰椎间盘突出伴椎管狭窄疾病患者血液中炎症因子影响情况下, 试验组与对照组比较, 只有术后第2天中的肿瘤坏死因子 α 及第3天的白细胞介素 1β 、肿瘤坏死因子 α 的变化有统计学意义。肿瘤坏死因子 α 可以促进血管通透性增加, 加之退变椎间盘新生血管长入, 局部炎症反应, 肿瘤坏死

因子 α 被吸收入血, 引起血液中肿瘤坏死因子 α 的浓度升高, 但肿瘤坏死因子 α 的变化需要一个炎性反应过程, 试验组中硬脊膜的应用在此过程中通过有效止血和对渗出的吸收作用, 减少了肿瘤坏死因子 α 的吸收入血。而入血的肿瘤坏死因子 α 作用于血管内皮细胞, 诱导血管内皮细胞产生其他炎症递质, 如白细胞介素 1β 等, 进一步引起血液中白细胞介素 1β 的浓度升高, 关于血液中白细胞介素6, 可能需要更高浓度或更长时间肿瘤坏死因子 α 的变化方可引起有意义的变化。研究还发现血液中试验组炎症因子浓度呈降低趋势与引流液中变化相反, 而对照组炎症因子浓度呈增长趋势, 考虑是术部炎症因子吸收入血引起血液中浓度升高, 尽管大部分数据无统计学意义, 研究结果提示人工硬脊膜应用可以通过减少术部炎症因子吸收入血, 在一定程度上降低血液中炎症因子浓度。

试验尚存在的一些不足是未考虑炎症反应对患者体温及疼痛的影响, 目前研究还证实炎症因子与腰痛密切相关^[27], 腰椎术后反应性疼痛及疼痛性质变化逐渐受到临床关注, 应用人工硬脊膜可以减少腰椎术后炎症反应, 此结果是否对腰椎术后反应性疼痛有影响仍需进一步证实, 相信随着研究越来越多, 对人工脊柱膜的认识会越来越深刻。

本前瞻性研究结果显示人工硬脊膜可以降低腰椎术后局部炎症因子白细胞介素 1β 、白细胞介素6、肿瘤坏死因子 α 的渗出。虽然血液中炎症因子浓度变化大部分无统计学意义, 但人工硬脊膜的应用对外周血炎症因子浓度同样有降低作用, 另外试验发现试验组血细胞数轻度高于对照组, 提示人工硬脊膜可以减少血液渗出。

致谢: 感谢北京军区总医院骨科实验室全体工作人员大力的支持和无私的帮助, 使得试验得以顺利完成。

作者贡献: 李方进行试验设计, 试验实施为阴彦斌, 试验评估为李放, 资料收集为张昌猛, 阴彦斌成文, 赵广民审校, 阴彦斌对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求:

知情同意: 参与试验的患病个体及其家属自愿参加, 在充分了解治疗方案的前提下签署“知情同意书”; 干预及治疗方案获医院伦理委员会批准。

医生资质: 课题的实施者的临床医师, 经过相关培训, 具

有从事脊柱手术所要求的资质。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。

4 参考文献

- [1] Fayad F, Lefevre-Colau MM, Rannou F, et al. Relation of inflammatory modic changes to intradiscal steroid injection outcome in chronic low back pain. *Eur Spine J.* 2007; 16(7): 925-931.
- [2] Peng B, Zhang Y, Hou S, et al. Intradiscal methylene blue injection for the treatment of chronic discogenic low back pain. *Eur Spine J.* 2007; 16(1): 33-38.
- [3] McAuley D, Russell C, Farling P. Adcon-L gel and intraoperative hypotension during lumbar discectomy. *Br J Neurosurg.* 2004; 18(2): 180-182.
- [4] Ivanic GM, Pink TP, Homann NC, et al. The post-discectomy syndrome—etiology, diagnosis, treatment, prevention. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2001; 121(9): 494-500.
- [5] Ivanic GM, Pink PT, Schneider F, et al. Prevention of epidural scarring after microdiscectomy: a randomized clinical trial comparing gel and expanded polytetrafluoroethylene membrane. *Eur Spine J.* 2006; 15(9): 1360-1366.
- [6] Lladó A, Sologaistua E, Guimerá J, et al. Expanded polytetrafluoroethylene membrane for the prevention of peridural fibrosis after spinal surgery: a clinical study. *Eur Spine J.* 1999; 8(2): 144-150.
- [7] Ozaktay AC, Kallakuri S, Takebayashi T, et al. Effects of interleukin -1 beta, interleukin -6, and tumor necrosis factor on sensitivity of dorsal root ganglion and peripheral receptive fields in rats. *Eur Spine J.* 2006; 15(10): 1529-1537.
- [8] Nagashima H, Morio Y, Yamane K, et al. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1beta, and interleukin-6 in the cerebrospinal fluid of patients with cervical myelopathy and lumbar radiculopathy. *Eur Spine J.* 2009; 18(12): 1946-1950.
- [9] Ozaktay AC, Kallakuri S, Takebayashi T, et al. Effects of interleukin -1 beta, interleukin -6, and tumor necrosis factor on sensitivity of dorsal root ganglion and peripheral receptive fields in rats. *Eur Spine J.* 2006; 15(10): 1529-1537.
- [10] Miyagi M, Ishikawa T, Orita S, et al. Disk injury in rats produces persistent increases in pain-related neuropeptides in dorsal root ganglia and spinal cord glia but only transient increases in inflammatory mediators: pathomechanism of chronic diskogenic low back pain. *Spine (Phila Pa 1976).* 2011; 36(26): 2260-2266.
- [11] Du XR, Ye QB, Zhao LX, et al. *Zhongguo Linchuang Jiepouxue Zazhi.* 2002; 20(2): 86-89.
杜心如, 叶启彬, 赵玲秀, 等. 腰椎人字嵴顶点椎弓根螺钉进钉方法的解剖学研究[J]. *中国临床解剖学杂志*, 2002, 20(2): 86-89.
- [12] Igarashi A, Kikuchi S, Konno S. Correlation between inflammatory cytokines released from the lumbar facet joint tissue and symptoms in degenerative lumbar spinal disorders. *J Orthop Sci.* 2007; 12(2): 154-160.
- [13] Takahashi H, Suguro T, Okazima Y, et al. Inflammatory cytokines in the herniated disc of the lumbar spine. *Spine (Phila Pa 1976).* 1996; 21(2): 218-224.
- [14] Genevay S, Finckh A, Payer M, et al. Elevated levels of tumor necrosis factor alpha in periradicular fat tissue in patients with radiculopathy from herniated disc. *Spine (Phila Pa 1976).* 2008; 33(19): 2041-2046.
- [15] Seguin CA, Pilliar RM, Roughley PJ, et al. Tumor necrosis factor-alpha modulates matrix production and catabolism in nucleus tissue. *Spine (Phila Pa 1976).* 2005; 30(17): 1940-1948.
- [16] Thomas B, Thirion S, Humbert L, et al. Differentiation regulates IL-1 β induced cyclo-oxygenase-2 in human articular chondrocytes: Role of p38 mitogen-activated protein kinase. *Biochem J.* 2002; 362 (Part 2): 367-373.
- [17] Zheng YH, Cao P, Zhang XK, et al. *Guoji Gukexue Zazhi.* 2011; 32(4): 253-256.
郑月焕, 曹鹏, 张兴凯, 等. 腰椎终板退行性改变与髓核内炎症因子及下腰痛相关性研究[J]. *国际骨科学杂志*, 2011, 32(4): 253-256.
- [18] Le Maitre CL, Hoyland JA, Freemont AJ. Catabolic cytokine expression in degenerate and herniated human intervertebral discs: IL-1 β and TNF- α expression profile. *Arthritis Res Ther.* 2007; 9(4): 77-82.
- [19] Jimbo K, Park JS, Yokosuka K, et al. Positive feedback loop of interleukin-1 beta upregulating production of inflammatory mediators in human intervertebral disc cells in vitro. *J Neurosurg Spine.* 2005; 2(5): 589-595.
- [20] Urban JP, Smith S, Fairbank JC. Nutrition of the intervertebral disc. *Spine (Phila Pa 1976).* 2004; 29(23): 2700-2709.
- [21] Kato T, Haro H, Komori H, et al. Sequential dynamics of inflammatory cytokine, angiogenesis inducing factor and matrix degrading enzymes during spontaneous desorption of the herniated disc. *J Orthop Res.* 2004; 22(4): 895-900.
- [22] Koga S, Morris S, Ogawa S, et al. TNF modulates endothelial properties by decreasing cAMP. *Am J Physiol.* 1995; 268 (5Pt1): C1104-1113.
- [23] Ohba T, Haro H, Ando T, et al. TNF-alpha induced NF-kappaB signaling reverses age-related declines in VEGF induction and angiogenic activity in intervertebral disc tissues. *J Orthop Res.* 2009; 27(2): 229-235.
- [24] Weiler C, Nedich AG, Bachmeier BE, et al. Expression and distribution of tumor necrosis factor alpha in human lumbar intervertebral discs: a study in surgical specimen and autopsy controls. *Spine (Phila Pa 1976).* 2005; 30(1): 44-54.
- [25] Han JJ, Li JM, Ding WY, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu.* 2008; 12(33): 6462-6465.
韩建军, 李菊梅, 丁文元, 等. 腰椎间盘突出程度与间盘组织肿瘤坏死因子 α 水平的关系[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(33): 6462-6465.
- [26] Huang SL, Wu TQ, Zhong M, et al. *Chengdu Yixueyuan Xuebao.* 2009; 4(4): 274-276.
黄泗霖, 吴天清, 钟敏, 等. 腰椎间盘突出症腰痛程度与外周血 TNF- α 水平关系的临床研究[J]. *成都医学院学报*, 2009, 4(4): 274-276.
- [27] Ozaktay AC, Cavanaugh JM, Asik I, et al. Dorsal root sensitivity to interleukin-1 beta, interleukin-6 and tumor necrosis factor in rats. *Eur Spine J.* 2002; 11(5): 467-475.