

损毁弓状核导致移植骨骨质疏松

林雁龙 李钊 王伟森 刘浩宇 刘锡仪

摘要: 目的 观察损毁弓状核对大鼠异体移植骨生长的影响。方法 新生 SD 大鼠 26 只随机分为 MSG 组和对照组。MSG 组大鼠出生后第 1、3、5、7、9d 皮下注射 10%MSG 4g/kg 体重。对照组同法注射等体积生理盐水。存活至第 60d, 于背部皮下植入异体骨。分别于骨植入后第 30d、60d 取出并进行测量。结果 MSG 组移植骨重量、%Tb. Ar、Tb. Th、Tb. N 降低, Tb. Sp 增加, 骨小梁断裂, 连接中断, 出现骨质疏松。结论 损毁 ARC 导致移植骨骨质疏松, 且 60d 较 30d 显著。
关键词: 弓状核; 移植骨; 骨质疏松

Osteoporosis of allotransplant bone induced by damaged hypothalamic arcuate nucleus LIN Yanlong, LI Dian, WANG Weisen, et al. Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of damaged hypothalamic arcuate nucleus on allotransplant bone. **Methods** Twenty-six newborn SD rats were divided into MSG group and control group randomly. 10% MSG were injected (4g/kg) hypodermically to all rats in MSG group once every other day, while equal volume of normal saline was given to the controls. On day 60, allotransplant bone was planted in the dorsal of the rats hypodermically in both group. The planted bones were taken out and measured on the 30 and 60 days post-operation. **Results** The allotransplant bone in MSG group showed reduced weight, %Tb. Ar, Tb. Th and Tb. N increased. Tb. Sp broken trabecular and osteoporosis. **Conclusions** The damaged hypothalamic arcuate nucleus contribute to osteoporosis of allotransplant bone.

Key words: ARC; Allotransplant bone; Osteoporosis

本实验室曾报道, 损毁下丘脑弓状核 (ARC) 导致骨骼生长障碍, 胫骨明显变短, 骨小梁明显破坏, 发生骨质疏松^[1]。新生期大鼠注射谷氨酸单钠 (monosodium glutamate; MSG) 可选择性地损毁 ARC 神经细胞, 使 ARC 细胞数量显著减少^[2], 出现生长素、性激素、甲状腺素等多种内分泌功能下降, 衰老时, ARC 内神经元的数量和形态发生显著变化^[3], 老龄小鼠 (18~20 月龄) ARC 内神经元的数量减少了 31%^[4], 衰老时 ARC 内神经元的数量减少最明显^[5], 老年大鼠出现内分泌功能减退和骨质疏松。因此研究损毁 ARC 对骨代谢的调控有助于了解老年期骨代谢状况及骨缺损修复、骨移植等的疗效。本文研究新生期大鼠注射 MSG 损毁 ARC 对移植骨生长的影响, 进一步了解 ARC 对骨代谢的调控作用, 并为了解老年期骨缺损修复、骨移植和骨折愈合等提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 损毁弓状核实验动物模型的建立

实验用纯种 Sprague-Dawley (SD) 大白鼠进行, 新生 SD 大鼠 26 只, 雌雄不拘 (广东医学院实验动物中心提供), 随机分为 MSG 组 (14 只) 和 NS 组 (12 只)。MSG 组, 于出生后第 1、3、5、7、9d 皮下注射 10% 谷氨酸单钠 (monosodium glutamate MSG) (中国医药集团上海化学试剂公司) 4g/kg 体重。NS 组同法注射等体积生理盐溶液。每次注射后, MSG 组和 NS 组作好标记, 放回原窝仍由原母鼠哺乳, 至 30d 断奶, 分笼饲养。所有动物自由摄食、饮水, 在 24~28℃、通风良好、湿度为 60~80% 的条件下饲养, 饲料为湛江市家和饲料有限公司生产的标准固体饲料。各组进食、饮水、光照及通风条件相同。饲养至 60d 接受异体骨移植。

1.2 异体移植骨的制备

取同种异体 2 月龄 SD 大鼠, 雌雄不拘, 处死,

取右侧胫骨上端 1cm，分离净软组织，洗净骨髓腔血，脱脂 24h，脱钙 2h，脱蛋白 12h，消毒，75% 酒精冷藏保存备用。

1.3 骨移植手术

待动物 2 月龄时均行 3% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉 (2.5ml/kg)，无菌操作下把制备好的同种异体骨移植在动物背部皮下的相同部位，缝合切口，消毒包扎伤口。术后分笼喂养，切口愈合良好。

1.4 动物取材及指标测量

异位移植骨手术后第 30d、60d，将 MSG 组和 NS 组各随机分两批，麻醉、无菌操作下取出异位移植骨，剔除净软组织，十万分之一分析天平测湿重，用阿基米德原理测体积后沿胫骨粗隆处纵行切成两半，左半于 120℃ 烤箱烘干 1h，测体积，氯仿甲醇浸泡 72h，120℃ 烘干 6h 至恒重，冷却后称干

重，右半经甲醛固定，盐酸甲醛脱钙，硫酸钠中和、水洗，叔丁醇脱水透明，浸蜡包埋，矢状面纵向连续切片，厚度为 8μm，HE 染色后用半自动图像分析仪测量干骺端松质骨的 4 个静态参数：骨小梁面积百分数 (%Tb.Ar)、骨小梁宽度 (Tb.Th)、骨小梁数量 (Tb.N)，骨小梁分离度 (Tb.Sp)。

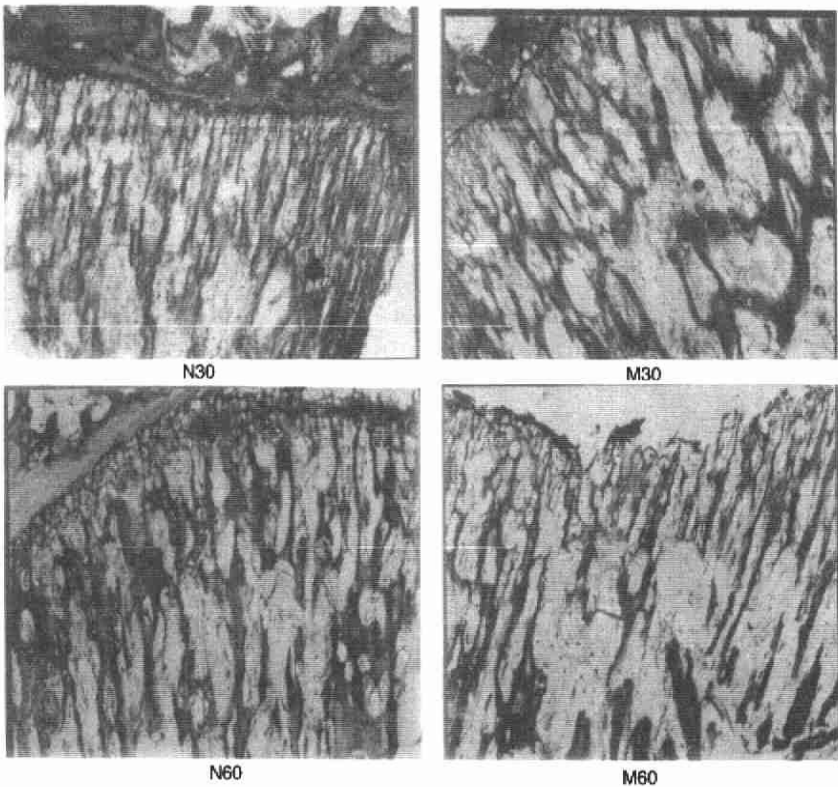
1.5 统计学处理

统计分析用组间 *t* 检验。数据用 SpssV.7.5 软件处理，结果以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。差异显著性以 *P* < 0.05 和 *P* < 0.01 表示。

2 结果

2.1 损毁弓状核对移植骨组织形态学的影响 (图 1)

2.2 损毁弓状核对移植骨湿重、干重的影响 (表 1)



移植骨组织切片 HE 染色 (10×10)

N30, N60 (M30, M60) 分别代表 NS 组 (MSG 组) 骨移植后 30d、60d。下同

图 1 损毁弓状核对移植骨组织形态学的影响

表 1 损毁弓状核对移植骨湿重、干重的影响 (g/cm³, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	30d		60d	
		湿重	干重	湿重	干重
NS	6	1.084±0.298	0.685±0.058	1.717±0.527 [△]	1.659±0.339 ^{△△}
MSG	7	1.294±0.285	0.950±0.700	1.524±0.348	1.091±0.208 ^{**}

注：MSG 与 NS 比较 ** *P* < 0.01 与 NS 30d 比较 [△] *P* < 0.05 ^{△△} *P* < 0.01

从表 1 结果可见, 移植骨 30d 时, MSG 组的湿重、干重略高于 NS 组, 但无统计学意义 ($P>0.05$), 60d 时, MSG 组移植骨的湿重、干重则显著较 NS 组低 ($P<0.01$)。另外, 移植骨 60d 与 30d 比, MSG 组湿重、干重虽略有增加, 但无统计

学意义 ($P>0.05$), 而 NS 组则湿重增加 ($P<0.05$), 干重显著增加 ($P<0.01$)。说明 NS 组移植骨的生长较 MSG 组好。

2.3 损毁弓状核对移植骨组织计量学的影响 (表 2)

表 2 损毁弓状核对移植骨组织计量学的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	%Tb. Ar	Tb. Th	Tb. N	Tb. SP
N30	6	45.784±7.17	3506.26±1322.25	0.16±0.08	411.20±1386.65
M30	7	37.93±11.73	4393.68±1554.76	0.09±0.01	7125.17±1504.82**
N60	6	56.01±5.10▲	5765.84±676.07▲	0.10±0.01	4536.88±706.76
M60	7	27.55±4.96△△	3744.98±1199.69△△	0.08±0.02△	9635.39±706.76△△▲

注: M30 比 N 30 ** $P<0.01$; M60 比 N60 △ $P<0.05$, △△ $P<0.01$; M60 比 M30、N60 比 N30, ▲ $P<0.05$

从图 1 结果可见, MSG 组的移植骨骨小梁稀疏变细, 结构破坏, 连续性中断, 小梁间距变宽, 且 M60 较 M30 明显, 说明时间越长, 这种改变越明显。

从表 2 结果可见, 30d 时 MSG 组移植骨 Tb. Sp 明显增大 ($P<0.01$), Tb. Th 略有增大, % Tb. Ar, Tb. N 略有下降, 但均无统计学意义 ($P>0.05$)。60d 时 MSG 组移植骨的 % Tb. Ar、Tb. Th 明显降低 ($P<0.01$), Tb. N 减少 ($P<0.05$), Tb. SP 明显增大 ($P<0.01$)。60d 与 30d 的 MSG 组移植骨相比, Tb. Sp 增大 ($P<0.05$), % Tb. Ar、Tb. Th、Tb. N 均下降, 但无统计学意义 ($P>0.05$), 而 NS 组的 % Tb. Ar 增加 ($P<0.05$), Tb. Th 明显增加 ($P<0.01$)。说明损毁 ARC 后, 移植骨的骨量降低, 结构发生明显改变, 出现骨质疏松, 且 60d 较 30d 明显。

3 讨论

取同种异体 SD 大鼠胫骨上段, 剔净软组织, 洗净骨髓腔血, 脱脂, 脱钙, 75% 酒精冷藏保存, 移植于同种异体大鼠背部皮下。结果发现 60d 与 30d 比较, 移植骨的湿重和干重都明显增加 (分别 $P<0.05$, $P<0.01$), 骨小梁面积百分数 (% Tb. Ar) 增加 ($P<0.05$), 骨小梁宽度增加 ($P<0.05$), 说明移植骨在宿主部位生长良好。

同种异体移植骨在宿主部位所起的生物效应, 主要表现为自身成骨作用、骨诱导作用和骨传导作用。新鲜同种异体移植, 其移植骨中存活的细胞具有早期成骨能力, 但因免疫排斥反应, 移植骨供体来源的细胞被杀死, 早期成骨被吸收。骨库保存的同种异体骨细胞多已死亡, 故不具成骨能力。本实验植入的异体骨, 其细胞活性已消失, 形成新骨的细胞来源于宿主组织, 通过骨诱导作用使多向干细胞和成纤维细胞分化为骨细胞形成新骨, 从而使移

植骨在宿主部位生长良好。因此, 这一在宿主部位生长良好的异体移植骨已具备了与宿主的组织相容性和生物活性, 如果将此在宿主体内“培养”的异体移植骨用于宿主骨缺损的修复和重建治疗, 可能起到“自体骨移植”的作用, 促进移植骨与宿主的愈合过程。结果提示, 异体移植骨在宿主体内培养可以生长良好, 并可能成为有早期成骨能力, 与宿主有组织相容性的供体骨, 提供给需要自体骨移植进行骨缺损修复的患者, 作为供体骨来源。

新生期大鼠注射 MSG 可选择性地破坏下丘脑弓状核神经元^[2], 下丘脑弓状核参与骨生长发育的调控^[1]。新生期 SD 大鼠注射 MSG 后, 移植骨于 30d 时湿重、干重与对照组无明显差别, 但 60d 时湿重、干重都显著低于对照组, % Tb. Ar、Tb. Th 明显降低 ($P<0.01$), Tb. N 减少 ($P<0.05$), Tb. Sp 明显增大, 光镜下可见移植骨骨小梁稀疏变细, 结构破坏, 连续性中断, 小梁间距变宽, 出现明显的骨质疏松, 且 60 天较 30d 明显, 提示下丘脑弓状核参与异体移植骨在宿主体内的骨代谢调控。改变内分泌等生物化学因子可影响移植骨的生长。

【参 考 文 献】

[1] 刘浩宇, 刘锡仪. 新生期大鼠注射谷氨酸单钠后导致骨质疏松. 中国骨质疏松杂志, 2000, 6 (4): 10-12.
[2] 吴开云, 李耀武. 谷氨酸单钠对新生期大鼠弓状核神经元损毁的实验研究. 解剖学杂志, 1999, 22: 273-275.
[3] 汪华侨, 唐迁勇, 潘三强. 大鼠下丘脑弓状核神经元的衰老性变化. 解剖学杂志, 1997, 20 (2): 118-121.
[4] Miller MM. Neurobiol Aging. 1982, 34: 683-690.
[5] Sartin JL, Lamperti AA. Neuron numbers in hypothalamic nuclei of young, middle-aged and aged male rats. Experientia, 1985, 41 (1): 109-111.

(收稿日期: 2004-08-01)