

· 临床研究 ·

急性和亚急性骨质疏松椎体骨折不同愈合时期骨组织形态学分析

张芸¹ 齐浩然² 高观⁴ 姜强⁴ 王磊³ 王文波³ 孙建民² 王均宁¹ 薛景才^{3*}

1. 山东中医药大学中医学院 山东 济南 250012

2. 山东大学附属省立医院 山东 济南 250012

3. 山东中医药大学第二附属医院脊柱外科, 山东 济南 250012

4. 山东省威海卫人民医院脊柱外科, 山东, 威海 261002

中图分类号: R683.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2020) 12-1815-05

摘要: **目的** 观察急性和亚急性骨质疏松性椎体压缩骨折(osteoporotic vertebral compression fracture, OVCF)发生后,不同愈合时期椎体内骨组织病理特点。**方法** 将 119 例(OVCF)患者按发病时间分为四期:I 期(0~15 d);II 期(15~30 d);III 期(30~60 d);IV 期(60~90 d)。常规行椎体内骨折区活检骨组织取出,制备脱钙活检标本,运用光镜观察并骨组织形态计量学分析。**结果** 共获得活检标本 119 例,其中 I 期 67 例(56.3%)、II 期 28 例(23.5%)、III 期 12 例(10.8%)、IV 期 13 例(10.9%)。所有病理标本均未发现肿瘤或结核。骨折时间与骨组织形态学改变呈显著正相关,镜下表现为骨折区域的修复变化:从早期血肿和炎性浸润到肉芽组织和纤维组织的增生,进一步软骨成骨、钙盐沉积,最终形成新的编织骨。骨组织形态学测量结果显示 I 期、II 期 FV/TV(%)显著增高($P<0.0001$, $r=0.4882$), III 期 OS/BS(%)显著增高($P<0.0001$, $r=-0.5727$), IV 期 WBV/TV(%)显著增高($P<0.0001$, $r=-0.5836$)。**结论** 骨折时间是骨折愈合分期重要的预测因素,发病时间不同,其椎体内部的病理变化也不尽相同。

关键词: 骨质疏松性椎体压缩骨折;活检;骨组织形态计量学

Bone histomorphologic analysis at different healing stages of sub and acute osteoporotic vertebral fracture

ZHANG Yun¹, QI Haoran², GAO Guan⁴, JIANG Qiang⁴, WANG Lei³, WANG Wenbo³, SUN Jianmin², WANG Junning¹, XUE Jingcai^{3*}

1. College of Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250012

2. Department of spine, Shandong Provincial Hospital affiliated to Shandong University, Jinan 250012

3. Department of spine, The second affiliated hospital of shandong university of traditional Chinese medicine, Jinan 250012

4. Department of Spine, Weihaiwei People's Hospital, Weihai 264200

* Corresponding author: XUE Jingcai, Email: 826067299@qq.com

Abstract: **Objective** To observe the bone pathologic characteristics of sub and acute osteoporotic vertebral compression fracture (OVCF) at different healing stages. **Methods** According to the time since fracture, 119 patients were divided into four stages: Stage I (0 to 15 days), Stage II (15 days to 30days), Stage III (30 days to 60days), Stage IV (60 days to 90days). Decalcified biopsy specimen was obtained from the cancellous bone core in the fractured vertebral body. The histomorphometry study were analyzed by light microscopy using grid analysis and defined using bone histomorphometry criteria. **Results** 119 biopsy specimens were obtained, 67 (56.3%) patients in Stage I, 28 (23.5%) in Stage II, 12 (10.8%) in Stage III and 13 (10.9%) in Stage IV. No tumor or tuberculosis was found in all pathological specimens. There was a significant positive correlation between fracture time and bone histomorphometry. Microscopically, the changes were observed: From early hematoma and inflammatory infiltration to granulation weave and fibrous tissue proliferation, further cartilage osteogenesis, calcium salt deposition, and eventually the

基金项目: 山东省医药卫生科技发展计划项目(2018WS094)

* 通信作者: 薛景才, Email: 826067299@qq.com

formation of new woven bone. Bone histomorphometry showed that FV/TV (%) in stage I and II increased significantly ($P < 0.0001$, $r = 0.4882$), OS/BS (%) in stage III increased significantly ($P < 0.0001$, $r = -0.5727$), and WBV/TV (%) in stage IV increased significantly ($P < 0.0001$, $r = -0.5836$). **Conclusion** The fracture time is an important predictor of healing stage. The pathological changes inside the vertebral body were also different with the onset time.

Key words: osteoporotic vertebral compression fracture; biopsy; bone histomorphometry

随着人口老龄化程度的不断加剧,骨质疏松椎体压缩骨折(osteoporotic vertebral compression fracture, OVCF)患病率不断上升,已成为影响我国老年人群的三大疾病之一。2015 年我国 50 岁以上人群中,新发 OVCF 约为 127 万例,预计到 2050 年,将高达 300 万例^[1]。目前,椎体成形术中常规椎体内活检已被广泛应用于 OVCF 的诊断和治疗,其常用于明确椎体骨折的病因,对恶性肿瘤的诊断尤为重要^[2]。荟萃分析显示,椎体活检诊断准确率为 88.1%,诊断满意率为 90.1%,并发症发生率仅为 5.3%^[3]。骨组织活检不仅有助于排除恶性病理性骨折,其组织形态学测量更能动态地反映骨骼的组织学与生理学特征与变化,准确反映椎体骨折修复与重建的病理过程^[4]。然而,迄今为止,很少有文献报道应用骨组织活检分析椎体骨折后不同愈合时期的骨微观结构。因此,本研究目的是通过研究骨质疏松性椎体骨折后不同愈合时期骨组织形态学变化,探讨椎体活检对椎体骨折愈合的判断价值及其在指导临床治疗中的意义。

1 材料与方法

1.1 一般资料

选取 2016 年 6 月至 2019 年 10 月入住山东中医药大学第二附属医院脊柱外科的 165 例 OVCF 患者。所有患者均行脊柱 MRI 检查,并证实存在新鲜椎体骨折。入选标准:(1)年龄在 50 岁以上;(2)轻微外伤后背痛 ≤ 3 个月;(3)骨密度 T 值 ≤ -2.5 ;(4)单节段骨折;(5)具有完整的临床资料。排除标准:多节段骨折;既往患椎体成形术、脊柱感染、妊娠、肥胖、脊柱畸形、椎体肿瘤等。最终,共有 119 例(119 节椎体)患者符合标准(表 1)。根据不同骨折时间,将所有患者分为 4 期:I 期(0~15 d);II 期(15~30 d);III 期(30~60 d);IV 期(60~90 d)。此项研究得到了医院伦理委员会的批准,并获得了所有患者的书面知情同意。

1.2 方法

1.2.1 骨组织活检:所有患者均常规置于俯卧位,在局部麻醉(1%利多卡因)下经椎弓根入路经皮穿

刺活检。活检定位于椎体内骨折区域,取 0.5~1 cm 大小松质骨标本。标本常规脱水、脱钙、石蜡包埋、切片、苏木精-伊红染色,由经验丰富的病理学医师在显微镜下进行切片观察。

1.2.2 定量分析:据美国骨矿研究协会(ASBMR)提出的标准命名法^[5],参数如下:松质骨体积/组织体积(BV/TV,%),编织骨体积/组织体积(WBV/TV,%),软骨内骨体积/组织体积(EBV/TV,%),肉芽或纤维组织体积/组织体积(FV/TV,%),类骨质体积/骨体积(OV/BV,%),类骨质表面/骨表面(OS/BS,%) 和类骨质厚度(μm)。

1.3 统计分析

采用 SPSS 20.0 进行统计分析。定量数据以均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,定性数据以百分比表示。定量资料比较采用独立样本 t 检验,定性资料比较采用卡方检验。所有因素均纳入 logistic 回归分析。 $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较

本次研究中,I 期 67 例(56.3%),II 期 28 例(23.5%),III 期 12 例(10.8%),IV 期 13 例(10.9%),其中女性 87 例,男性 32 例,女性发生率(73.1%)远高于男性(26.9%)。平均骨折时间:I 期(11.4 ± 0.2)天,II 期(24.8 ± 0.6)天,III 期(50.6 ± 0.4)天,IV 期(80.1 ± 0.2)天,差异有统计学意义($P < 0.05$),期间骨密度和体质量指数(body mass index, BMI)差异不显著。见表 1。

119 节伤椎中,胸椎 59 节(T7=3;T8=2;T10=9;T11=14;T12=31),腰椎 60 节(L1=25;L2=16;L3=12;L4=4;L5=3),胸腰段发生率高达 79.8%(95 节),组间差异无统计学意义。

2.2 骨形态计量学

所有患者均顺利完成手术,术后未出现与活检取出相关的并发症,取得活检标本 119 例,其中胸椎 63 例(T7=5;T8=4;T10=6;T11=13;T12=35),腰椎 56 例(L1=25;L2=15;L3=8;L4=5;L5=3)。所有病理标本均未发现肿瘤或结核。在所有标本中,最主要的

骨形成方式是软骨成骨,无膜内成骨。采用长骨骨折愈合组织学定义^[6],对不同骨折时间骨组织愈合特点进行形态学描述。BV/TV (%) 在所有活检组织中均明显降低(12.8%),在同一活检标本中,83 例(70%)患者至少有 2 个或以上的骨折愈合期,不同分期之间存在明显的重叠。见表 2 和图 1。

表 1 一般临床资料

Table 1 General clinical data

项目	骨折分期			
	I 期	II 期	III 期	IV 期
年龄	65.8±3	71.6±2	67.5±2	68.2±1
性别/(女/男)	17:50	9:19	4:8	2:11
骨密度 T 值	-3.34±0.3	-2.67±0.2	-3.3±0.3	-3.61±0.3
体重/kg	68±2	65±4	64±5	63±3
身高/cm	157±4	156±5	154±4	155±3
骨折平均发病时间/天	11.4±0.2	24.8±0.6 ^a	50.6±0.4 ^b	80.1±0.2 ^c

注:对比 II 期,^a $P<0.01$;对比 III 期,^b $P<0.01$;对比 IV 期,^c $P<0.01$ 。

表 2 不同骨折时间骨组织形态测量结果分析

Table 2 Analysis of bone tissue morphometry according to different time since fracture

变量 ^a	骨折分期			
	I 期	II 期	III 期	IV 期
BV/TV/%	12.5±0.6	11.9±0.5	13.7±0.9	13.2±1.2
OV/BV/%	1.9±0.4	4.5±0.8	8.3±1.2 ^{b,c}	6.8±1.1 ^b
WBV/TV/%	0.13±0.05	0.16±0.2	5.6±0.6 ^{b,c}	9.6±1.0 ^{b,c,d}
FV/TV/%	47.3±5.4 ^e	50.2±7 ^e	34.6±3.2	1.9±4.3
EBV/TV/%	1.5±0.5	7.4±1.2 ^{b,e}	8.1±0.9 ^{b,e}	2.7±0.7
OS/BS/%	11.2±0.5	20.5±3.5	41.8±2.7 ^{b,c}	39.2±1.8 ^{b,c}

注:^a:各变量缩写参见正文 1.2.2。对比 I 期,^b $P<0.001$;对比 II 期,^c $P<0.01$;对比 III 期,^d $P<0.01$;对比 IV 期,^e $P<0.05$ 。

I 期:OV/BV 和 WBV/TV 比值达到最小值[(1.9±0.4)%, (0.13±0.05)%, $P=0.0006$, $P=0.000$]。骨小梁裂隙增宽,网状结构被破坏,血肿形成,并伴有炎性细胞浸润。见图 2。

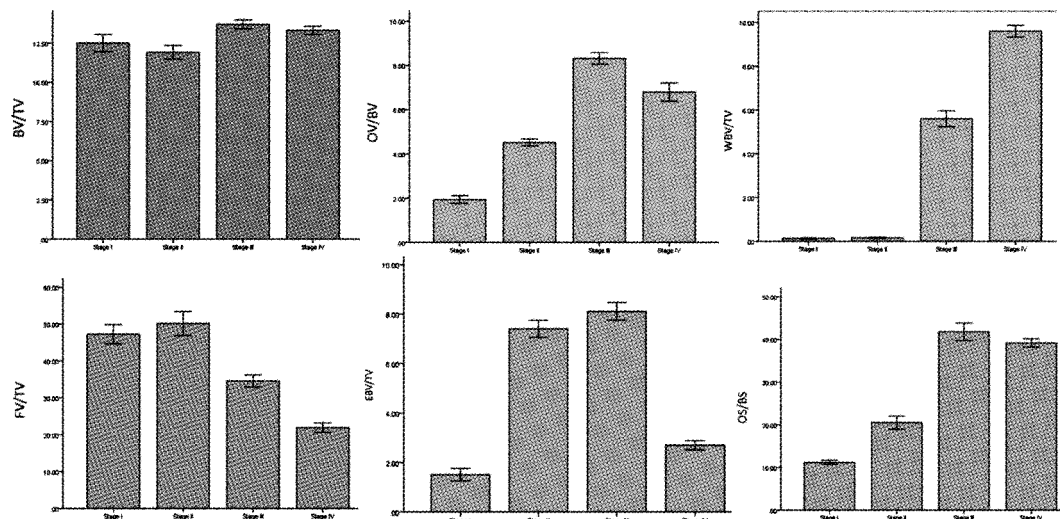


图 1 不同骨折时间骨组织形态分布特点

Fig.1 Bone morphology distribution according to different time since fracture

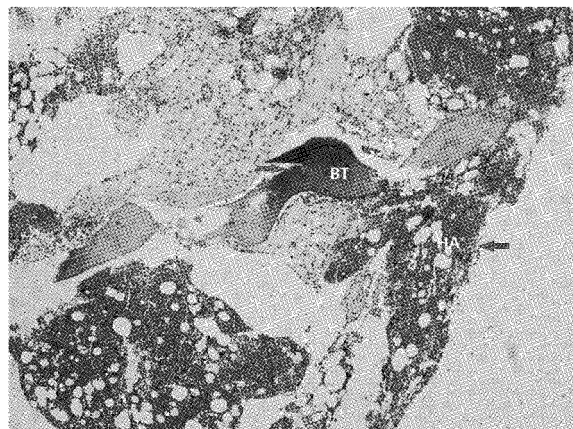


图 2 I 期活检骨组织病理显微镜下观察所见
注:HA=血肿,BT=正常骨小梁。苏木精-伊红染色,×100。

Fig.2 Pathological microscopic observation of stage I biopsy bone tissue

II 期:FV/TV 明显升高[(50.2±7)%, $P=0.026$]。血肿机化,肉芽和纤维组织增生,软骨细胞增生并形成局灶性软骨,骨基质合成钙化,钙盐沉积形成原始性骨小梁。见图 3。

III 期:OS/BS 比值达到峰值[(41.8±2.7)%, $P=0.001$]。骨折愈合进一步发展,新骨小梁形成,并与旧骨小梁连接,网状结构初步形成。成骨细胞产生,形成骨样组织,钙盐沉积形成编织骨。此时形成的编织骨不够致密,骨小梁不够成熟。见图 4。

IV 期:WBV/TV 比值达到峰值[(9.6±1.0)%, $P=0.001$]。此期显示骨重塑过程,血肿及纤维性小血管明显减少,骨基质和骨小梁明显增多,部分骨小梁成熟,出现应力线。编织骨最终被板层骨取代,

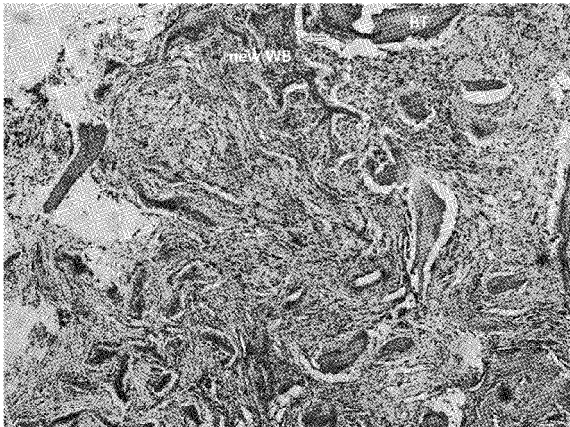


图 3 II 期活检骨组织病理显微镜下观察所见
注:WB=编织骨,BT=正常骨小梁。苏木精-伊红染色,
×100。

Fig.3 Pathological microscopic observation of stage II biopsy bone tissue

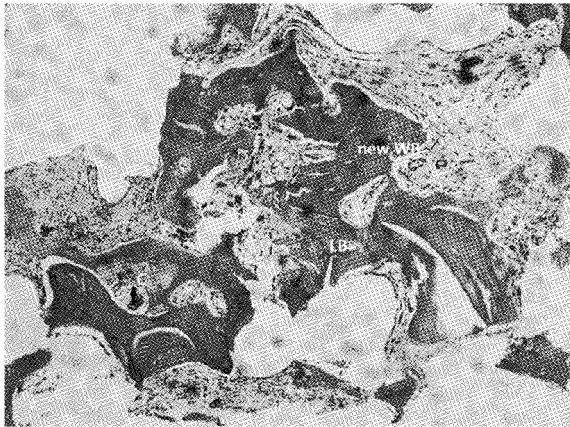


图 5 IV 期活检骨组织病理显微镜下观察所见
注:C=软骨,WB=编织骨,LB=板层骨。苏木精-伊红染色,
×100。

Fig.5 Pathological microscopic observation of stage IV biopsy bone tissue

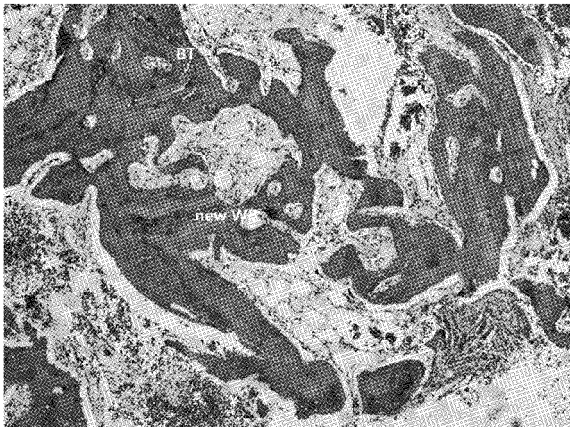


图 4 III 期活检骨组织病理显微镜下观察所见
注:WB=编织骨,BT=正常骨小梁。苏木精-伊红染色,
×100。

Fig.4 Pathological microscopic observation of stage III biopsy bone tissue

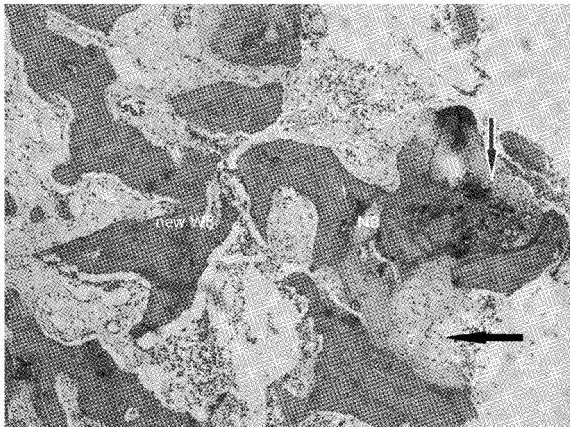


图 6 IV 期活检骨组织病理显微镜下观察所见
注:C=软骨,WB=编织骨,NB=坏死骨。苏木精-伊红染色,
×100。

Fig.6 Pathological microscopic observation of stage IV biopsy bone tissue

重建正常的松质骨微结构。见图 5。其中部分椎体骨折可能出现延迟愈合甚至不愈合,镜下可见坏死骨组织与新生编织骨并存。见图 6。

2.3 骨折时间与骨组织形态相关性

采用统计学模型评价不同时期骨折愈合过程中的特点及组织病理学参数。分析显示,骨折时间和骨组织形态测量是一个恒定的显著预测因子,并在骨折愈合中显示出明显的相关性(表 3)。I 期、II 期 FV/TV(%) 显著增高 ($P<0.0001$, $r=0.4882$), III 期 OS/BS(%) 显著增高 ($P<0.0001$, $r=-0.5727$), IV 期 WBV/TV(%) 显著增高 ($P<0.0001$, $r=-0.5836$)。

表 3 骨折时间与骨组织形态相关性分析
Table 3 Correlation analysis between fracture time and bone tissue morphology

变量	相关性分析					
	BV/TV	OV/BV	WBV/TV	FV/TV	EBV/TV	OS/BS
r 值	-0.1745	-0.5389	-0.5836	0.4882	-0.2021	-0.5727
P 值	0.0517	0.0001	0.0001	0.0001	0.0238	0.0001

3 讨论

众所周知,松质骨骨折愈合方式与皮质骨不同,在其愈合过程中没有明显的类似皮质骨的骨痂形成^[7-8]。迄今为止,虽然长骨骨折愈合过程已被骨组织形态学进行了详细的描述^[9],但对于骨质疏松

性椎体骨折后的修复过程研究很少^[10]。Vernon-Roberts 和 Pirie^[11]首次报道了腰椎骨小梁微骨折尸检标本的愈合情况,发现骨折愈合方式为软骨成骨。国内张淑娴等^[12]利用兔的椎体骨折愈合模型观察其病理变化特点,认为随着骨折的修复,骨折椎体内的低密度骨折线逐渐被带状致密影所代替。近年来,透视下经椎弓根活检技术^[13]的出现,为获取椎体骨组织用于临床研究提供了便利。松质骨骨折成骨方式主要为软骨内成骨,包括纤维软骨向矿化软骨转化,最终转化为成熟骨,其最基本的步骤是炎症反应、骨修复和骨重塑^[14]。创伤后不久,椎体骨髓中产生血肿,炎细胞浸润。2~4 周后,水肿和出血逐渐被吸收,成纤维细胞增殖,新生毛细血管增生,血肿开始机化,纤维蛋白增生,形成肉芽组织和局灶性软骨组织^[15],原始骨小梁形成。4~8 周后,骨小梁增多,大量类骨样组织形成,钙盐沉积。8~12 周后骨小梁增大趋于成熟,编织骨形成,部分脂肪组织改变,水肿完全吸收,创伤区血肿完全清除。但也有个别椎体会出现延迟愈合甚至不愈合,椎体内出现裂隙(IVC),活检标本可以观察到坏死骨组织。不同于长骨骨折愈合的不同阶段没有重叠^[6],椎体骨折愈合过程中会出现明显的多阶段重叠现象^[16]。究其原因大概是长骨骨折处通常有内固定或外固定来稳定,防止移动或再骨折,允许骨折有序的修复。而在椎体骨折中,由于合并骨质疏松,骨小梁变得稀疏、断裂,其稳定性无法得到保障,就会出现骨折区域修复与损伤共存现象,因此严重骨质疏松的椎体在骨折愈合过程中更容易再次骨折,并且这一现象可能对如何解释骨折后 MRI 椎体内长期存在的骨髓水肿有所帮助。

近年来,虽然保守治疗对大多数 OVCF 患者效果良好^[17-18],但经皮椎体成形术等微创脊柱手术已在临床得到广泛应用,并已被证明对 OVCF 有效^[19]。I 期骨折椎体处于急性水肿期,应及时给予保守治疗(包括药物止痛、卧床休息、外固定支架)或微创手术治疗(经皮椎体成形术);II 期、III 期均处于骨折修复期,不宜早期负重,可继续保守治疗或尽早手术治疗;IV 期椎体骨折大部分基本愈合,症状消失,功能锻炼可逐步开始。然而,由于部分骨折椎体延迟愈合甚至不愈合,出现后凸畸形或空隙征(IVC),导致持续慢性症状,对此种情况可酌情进行经椎弓根截骨术(PSO)矫形或经皮椎体成形等手术。

综上所述,本次对骨质疏松骨折椎体的研究表

明,发病时间不同,其椎体内部的病理变化也不尽相同。在组织学上,不同于长骨骨折愈合的持续连贯性,椎体骨折愈合存在不同阶段交叉重叠现象,而这可能提示在愈合过程中存在反复损伤伴复发性微骨折,对于评估椎体骨折的愈合情况及继发性病理改变有很大的帮助。

【参 考 文 献】

- [1] Si L, Winzenberg T, Jiang Q, et al. Projection of osteoporosis-related fractures and costs in China: 2010~2050[J]. *Osteoporos Int*, 2015,26(7):1929-1937.
- [2] 黄雨,何仕诚,杜瑞杰,等. 椎体骨质破坏行同轴穿刺活检 298 例分析[J]. *临床放射学杂志*, 2018,37(7):1196-1199.
- [3] Zhang L, Li J, Yang H, et al. Histological evaluation of bone biopsy results during PVP or PKP of vertebral compression fractures[J]. *Oncology Letters*, 2013,5(1):135-138.
- [4] 毛应德龙,史晓林. 骨活检在骨质疏松症中的应用及研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2007,13(6):451-453.
- [5] Gerstenfeld LC, Wronski TJ, Hollinger JO, et al. Application of histomorphometric methods to the study of bone repair [J]. *J Bone Miner Res*, 2005,20(10):1715-1722.
- [6] Einhorn TA. The cell and molecular biology of fracture healing [J]. *Clin Orthop Relat R*, 1998,355 (Suppl):S7-21.
- [7] 王焯. MRI 在骨质疏松性椎体压缩骨折中的诊断价值[J]. *中国实用医刊*, 2019,46(7):45-48.
- [8] 王晨光,肖湘生,沈天真,等. 椎体骨折及愈合的磁共振成像[J]. *中华骨科杂志*, 1997,17(4):255-257.
- [9] Einhorn TA. The science of fracture healing [J]. *J Orthop Trauma*, 2005,19(10 Suppl):S4-6.
- [10] Togawa D, Lieberman IH, Bauer TW, et al. Histological evaluation of biopsies obtained from vertebral compression fractures: unsuspected myeloma and osteomalacia [J]. *Spine*, 2005,30(7):781-786.
- [11] Vernon-Roberts B, Pirie CJ. Healing trabecular microfractures in the bodies of lumbar vertebrae [J]. *Ann Rheum Dis*, 1973,32(5):406-412.
- [12] 张淑娴,郭新全,邱玉金,等. 兔椎体骨折愈合过程的 X 线表现与病理学变化对照研究[J]. *实用放射学杂志*, 2008, 24(10):1414-1417.
- [13] Jackson AM, Barber K. Efficacy of routine biopsy at vertebral augmentation for compression fracture repair in the early detection of malignancy in presumed benign vertebral compression fracture [J]. *Journal of Clinical Densitometry*, 2018,21(1):24.
- [14] Remedios A. Bone and bone healing [J]. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 1999,29(5):1029-1044.
- [15] Greenbaum MA, Kanat IO. Current concepts in bone healing. Review of the literature [J]. *Journal of the American Podiatric Medical Association*, 1993,83(3):123-129.
- [16] Diamond TH, Clark WA, Kumar SV. Histomorphometric analysis of fracture healing cascade in acute osteoporotic vertebral body fractures[J]. *Bone*, 2007,40(3):775-780.
- [17] Musbahi O, Ali AM, Hassany H, et al. Vertebral compression fractures[J]. *Br J Hosp Med*, 2018,79(1):36-40.
- [18] 印平,马远征,马迅,等. 骨质疏松性椎体压缩性骨折的治疗指南[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2015,21(6):643-648.
- [19] 周红云,许超. 椎体成形术在骨质疏松性椎体压缩骨折中的应用进展[J]. *中国微创外科杂志*, 2019,19(7):645-648.

(收稿日期:2020-03-29;修回日期:2020-05-24)