

椎间盘退变模型的研究进展

杨松波, 高春华, 庞晓东, 李端明, 杨 洪, 彭宝淦

【关键词】椎间盘; 模型; 动物; 综述

【中图分类号】R 681.5 【文献标志码】A 【文章编号】1672-2957(2012)05-315-03

【DOI】doi:10.3969/j.issn.1672-2957.2012.05.016

椎间盘退变性疾病是脊柱外科的常见病和多发病, 多见于中老年患者, 随着近年来人们生活和工作方式的改变, 此类疾病呈年轻化趋势。椎间盘退变是一个非常复杂的生物学过程, 导致退变的因素也有多种, 但目前确切病因和病理生理机制仍不是十分清楚^[1-2]。因此需建立一种理想的椎间盘退变实验动物模型, 这对深入研究其退变的病理过程及有效评价人为干预因素的影响意义重大。本文通过对国内外相关文献进行分析和比较, 就椎间盘退变动物模型的研究方法及进展进行综述。

近年来, 动物模型的种类和造模方法越来越多, 主要分为 2 大类: 体内动物模型和体外动物模型。体内动物模型是指通过干预、诱发椎间盘退变, 根据影像学、形态学、生物化学和组织学等的变化, 动态观察椎间盘退变的病理过程。体外椎间盘退变模型是指在体外培养的细胞和器官模型, 此模型多用于短期的实验观察, 实验结果论证能力弱。因此建立良好的动物实验模型与造模动物的大小、种类, 以及造模时间有重要关系。目前制备椎间盘退变模型的动物主要有小鼠、大鼠、兔、羊、狗及灵长类等^[3]。

1 体内椎间盘退变模型

1.1 应力干预模型

Goff 最早于 1957 年通过手术截去大鼠双前肢来构建双足动物模型, 强迫大鼠直立而改变其脊柱的生物力学, 从而使其腰椎受力负荷增加, 使椎间盘发生退变, 由于伦理因素, 这种模型不被支持。Barbir 等^[4]通过将大鼠尾巴固定并改变屈曲角度, 并在特定的时间内进行影像学检查, 发现尾椎椎间盘出现退变, 证实椎间盘退变程度与应力改变有关。Korecki 等^[5]和 Hwang 等^[6]研究表明直接压力的增大或减小, 导致椎间盘中的应力重新分配, 对邻近椎体施压时, 髓核内的压力增高, 随之纤维环张力增

大, 当外力持续存在并超过髓核所耐受的压力时, 髓核内容积将减少, 其余压力被分到内层纤维环上, 从而出现椎间盘退变。Stokes 等^[7]在回顾性研究中指出许多研究模型仅考虑了机械性干预的压力和活动强度对椎间盘的影响, 而忽略了所应用的装置本身也会降低椎间盘的活动性, 这恰恰也是导致椎间盘退变的重要因素。

1.2 手术损伤模型

此类动物模型分为直接损伤和间接损伤。直接损伤主要是对纤维环和终板生理结构破坏致椎间盘退变。Melrose 等^[8]通过对羊的纤维环针刺损伤, 发现椎间盘蛋白多糖减少。Sobajima 等^[9]通过对兔的纤维环针刺损伤, 发现椎间盘内脊索细胞、髓核细胞发生组织学改变。Adams 等^[10]通过损伤邻近软骨终板, 使髓核内压力降低和椎间盘压力重新分布, 从而导致椎间盘退变。

间接损伤主要是通过手术破坏棘上、棘间韧带, 椎旁肌肉和棘突等致椎间盘发生退变。Wang 等^[11]通过剥离椎旁肌肉, 咬除棘突, 构建脊柱失稳模型, 术后 6~12 个月发现软骨细胞增生, 纤维环破裂, 髓核皱缩等。彭宝淦^[12]通过研究发现脊柱责任节段融合后, 虽然不会影响腰椎的运动范围, 但增加了临近运动节段的生物学应力, 从而加速了邻近节段椎间盘的退变。

1.3 化学损伤模型

Zhou 等^[13]和 Hoogendoorn 等^[14]分别向羊椎间盘内注入 5-溴脱氧尿核苷和硫酸软骨素酶, 均导致椎间盘退变。Mao 等^[15]在鼠尾椎椎间盘内注射不同剂量的 PPS 溶液, 4 周后的影像学及免疫组织化学均提示椎间盘退变。通过上述对比, 无论注射何种化学物质, 均将引发椎间盘不可逆的退变。化学损伤模型虽然有手术微创、易于操作等优点, 但不能完全模拟退变椎间盘中蛋白聚糖丢失的典型变化, 且注射药物可能影响生化检验的准确性。

作者简介: 杨松波 (1984—), 硕士, 医师

作者单位: 100039 北京, 武警总医院脊柱外科

通信作者: 彭宝淦 pengboan@163.com

1.4 营养障碍模型

大多数学者认为营养供应障碍是椎间盘退变的重要原因之一,于是探讨椎间盘营养障碍的修复和干预有重要意义。Krebs 等^[16]通过对羊的多节段椎体进行成形术,术后 12 个月发现相应节段椎间盘退变,但此实验未证明椎体成形术对椎间盘营养物质的运输关系。Hutton 等^[17]通过将骨水泥注入到实验椎间盘的相邻椎体内,制作血液供应障碍模型,结果未发现椎间盘退变。Holm 等^[18]制作猪椎间盘营养阻断模型,此实验严重影响了相邻终板的血液供应,但椎间盘未发生退变。

1.5 基因敲除模型

基因模型着重强调的是遗传相关因素对椎间盘退变的影响,但由于机体有自我调节和修复的功能,所以可能会自我诱发或忽视其他因素的影响。Boyd 等^[19]通过制作 IX 型胶原基因缺失的实验模型,结果显示鼠椎间盘退变,并与人类椎间盘退变有相似性。Hamrick 等^[20]通过研究对鼠的 *GDF8* 基因的敲除,结果示椎间盘发生信号改变。此类模型研究较少,还有待进一步的深入探讨和研究。

1.6 吸烟模型

Uei 等^[21]通过使小鼠在特定环境下被动吸烟,2 周后发现椎间盘出现纤维化,髓核水分丢失及结构紊乱等变化。Nemoto 等^[22]对鼠的被动吸烟的研究提示吸烟可能与椎间盘退变有关,停止吸烟后椎间盘基质中的纤维连接和蛋白聚糖水平有所恢复,但不能恢复到正常水平,证明戒烟后椎间盘在一定程度上有所恢复,但部分改变不可逆。

2 体外椎间盘退变模型

2.1 单层培养模型

刘瑞平等^[23]发现将兔椎间盘髓核细胞传至第 5 代会发生显著退变,主要功能基质 mRNA 水平表达和含量显著下降, I 型胶原显著升高,有退变为纤维细胞的趋势。Preradovic 等^[24]通过进行人髓核细胞的单层培养,发现 I 型胶原 mRNA 表达水平降低, II 型胶原蛋白聚糖 mRNA 水平保持稳定。Allon 等^[25]通过研究进行了干细胞和髓核细胞的培养。

2.2 三维培养模型

Wan 等^[26]通过采用较为先进的二维弹性支架材料模拟内外层纤维环,证明二相支架有良好的机械强度和生物相容性。Yuan 等^[27]发现在兔椎间盘 NP 细胞三维培养中,见细胞形态变圆,形成多聚细胞群,并且在细胞间及其周围形成细胞外基质成分,

利用免疫组化的方法检测出 I 型和 II 型胶原存在,此方法优于传统的单层细胞培养。Sato 等^[28]把兔椎间盘细胞在琼脂中进行三维培养,结果显示蛋白多糖合成无差异,细胞外基质合成增多。

2.3 椎间盘组织培养模型

Chan 等^[29]通过研究表明牛尾椎椎间盘与人类腰椎椎间盘相似,牛尾的肌肉组织保持着牛尾椎椎间盘承受一定的压力,俯卧位压力与人腰椎椎间盘压力大致相同,因此牛尾椎椎间盘是研究人类腰椎椎间盘的常用模型。Roberts 等^[30]和 Haschtmann 等^[31]分别将牛和兔椎间盘进行了体外培养,发现细胞的代谢活动类似于体内动物模型,但实验的重复性差。

3 结语及展望

综上所述,椎间盘的动物模型常用于研究椎间盘退变的发病机制、神经传导通路及各类临床治疗手段的有效性。以上介绍的体内、外动物模型均存在局限性,目前尚无标准的及完全模拟人类椎间盘退变的动物模型,用动物模型复制人类疾病是促使医学发展的重要途径和手段,因此应根据不同的研究目的去选择适合该研究的动物模型。

各类动物模型的局限性主要有:①研究结果可能因饲养动物的种类、大小、环境等不同而产生差异。②模型的诱导方法比较单一,无法完全模拟人类椎间盘退变的各种因素。③各种建模动物的年龄和干预措施较为局限,研究结果的可信度尚待进一步验证。④各类动物的解剖存在差异,可能会导致研究结果不一致。⑤椎间盘退变是个慢性过程,部分动物模型是一种急性椎间盘退变模型,无法完全模拟人类慢性退变椎间盘存在的营养丢失、胶原分解、基质破坏及细胞凋亡等变化。但随着近年来各种椎间盘退变模型的研究和进展,总结出以下建模时应注意的问题:①模拟重复性好。②符合椎间盘退变的客观规律。③造模动物经济、便利,符合道德伦理。④造模动物的解剖和生理特点尽可能与人类相似。

构建更为理想的动物实验模型对椎间盘退变的发病机制和临床研究有非常重要的意义,需要这一代甚至几代医学工作者不懈的努力及长期深入的探索。

参考文献

- [1] 彭宝淦. 关于生物学方法修复椎间盘退变的一些关键问题

- [J]. 颈腰痛杂志, 2008, 29(3):195-196.
- [2] Peng B, Hao J, Hou S, et al. Possible pathogenesis of painful intervertebral disc degeneration[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2006, 31(5):560-566.
- [3] Alini M, Eisenstein SM, Ito K, et al. Are animal models useful for studying human disc disorders/degeneration? [J]. Eur Spine J, 2008, 17(1):2-19.
- [4] Barbir A, Godburn KE, Michalek AJ, et al. Effects of torsion on intervertebral disc gene expression and biomechanics, using a rat tail model[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2011, 36(8):607-614.
- [5] Korecki CL, MacLean JJ, Iatridis JC. Dynamic compression effects on intervertebral disc mechanics and biology[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2008, 33(13):1403-1409.
- [6] Hwang D, Gabai AS, Yu M, et al. Role of load history in intervertebral disc mechanics and intradiscal pressure generation[J]. Biomech Model Mechanobiol, 2012, 11(1-2):95-106.
- [7] Stokes IA, Iatridis JC. Mechanical conditions that accelerate intervertebral disc degeneration: overload versus immobilization [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2004, 29(23):2724-2732.
- [8] Melrose J, Roberts S, Smith S, et al. Increased nerve and blood vessel ingrowth associated with proteoglycan depletion in an ovine annular lesion model of experimental disc degeneration[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2002, 27(12):1278-1285.
- [9] Sobajima S, Kompel JF, Kim JS, et al. A slowly progressive and reproducible animal model of intervertebral disc degeneration characterized by MRI, X-ray, and histology[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2005, 30(1):15-24.
- [10] Adams MA, Freeman BJ, Morrison HP, et al. Mechanical initiation of intervertebral disc degeneration [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2000, 25(13):1625-1636.
- [11] Wang YJ, Shi Q, Lu WW, et al. Cervical intervertebral disc degeneration induced by unbalanced dynamic and static forces: a novel in vivo rat model[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2006, 31(14):1532-1538.
- [12] 彭宝淦. 动力稳定系统治疗腰椎退变性疾病的研究近况 [J]. 武警医学, 2011, 22(2):93-96.
- [13] Zhou H, Hou S, Shang W, et al. A new in vivo animal model to create intervertebral disc degeneration characterized by MRI, radiography, CT/discogram, biochemistry, and histology [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2007, 32(8):864-872.
- [14] Hoogendoorn RJ, Helder MN, Kroeze RJ, et al. Reproducible long-term disc degeneration in a large animal model[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2008, 33(9):949-954.
- [15] Mao HJ, Chen QX, Han B, et al. The effect of injection volume on disc degeneration in a rat tail model[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2011, 36(16):E1062-1069.
- [16] Krebs J, Ferguson SJ, Goss BG, et al. Effect of vertebral cement augmentation with polymethylmethacrylate on intervertebral disc and bone tissue[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2012, 100(3):660-667.
- [17] Hutton WC, Murakami H, Li J, et al. The effect of blocking a nutritional pathway to the intervertebral disc in the dog model [J]. J Spinal Disord Tech, 2004, 17(1):53-63.
- [18] Holm S, Holm AK, Ekström L, et al. Experimental disc degeneration due to endplate injury[J]. J Spinal Disord Tech, 2004, 17(1):64-71.
- [19] Boyd LM, Richardson WJ, Allen KD, et al. Early-onset degeneration of the intervertebral disc and vertebral end plate in mice deficient in type IX collagen[J]. Arthritis Rheum, 2008, 58(1):164-171.
- [20] Hamrick MW, Pennington C, Byron CD. Bone architecture and disc degeneration in the lumbar spine of mice lacking GDF-8 (myostatin) [J]. J Orthop Res, 2003, 21(6):1025-1032.
- [21] Uei H, Matsuzaki H, Oda H, et al. Gene expression changes in an early stage of intervertebral disc degeneration induced by passive cigarette smoking[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2006, 31(5):510-514.
- [22] Nemoto Y, Matsuzaki H, Tokuhasi Y, et al. Histological changes in intervertebral discs after smoking and cessation: experimental study using a rat passive smoking model[J]. J Orthop Sci, 2006, 11(2):191-197.
- [23] 刘瑞平, 徐南伟. 兔椎间盘髓核细胞体外退变模型的建立 [J]. 江苏医学, 2010, 36(3):299-301.
- [24] Preradovic A, Kleinpeter G, Feichtinger H, et al. Quantitation of collagen I, collagen II and aggrecan mRNA and expression of the corresponding proteins in human nucleus pulposus cells in monolayer cultures [J]. Cell Tissue Res, 2005, 321(3):459-464.
- [25] Allon AA, Aurouer N, Yoo BB, et al. Structured coculture of stem cells and disc cells prevent disc degeneration in a rat model [J]. Spine J, 2010, 20(12):1089-1097.
- [26] Wan Y, Feng G, Shen FH, et al. Biphasic scaffold for annulus fibrosus tissue regeneration[J]. Biomaterials, 2008, 29(6):643-652.
- [27] Yuan M, Leong KW, Chan BP. Three-dimensional culture of rabbit nucleus pulposus cells in collagen microspheres[J]. Spine J, 2011, 21(10):947-960.
- [28] Sato M, Kikuchi T, Asazuma T, et al. Glycosaminoglycan accumulation in primary culture of rabbit intervertebral disc cells[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2001, 26(24):2653-2660.
- [29] Chan SC, Gantenbein-Ritter B. Preparation of intact bovine tail intervertebral discs for organ culture[J]. J Vis Exp, 2012(60):3490.
- [30] Roberts S, Menage J, Sivan S, et al. Bovine explant model of degeneration of the intervertebral disc[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2008, 9:24.
- [31] Haschtmann D, Stoyanov JV, Ettinger L, et al. Establishment of a novel intervertebral disc/endplate culture model: analysis of an ex vivo in vitro whole-organ rabbit culture system[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2006, 31(25):2918-2925.

(收稿日期:2012-09-26)

(本文编辑 张 丽)