

· 综述 ·

腰椎椎间盘退行性变动物模型建立方法的研究进展

姚明鹤¹, 陈家磊^{2*}

1. 四川大学华西临床医学院, 成都 610041

2. 四川大学华西医院骨科, 成都 610041

【关键词】腰椎; 椎间盘退行性变; 模型, 动物; 综述文献

【中图分类号】R 681.533 【文献标志码】A 【文章编号】1672-2957(2021)05-0353-05

【DOI】10.3969/j.issn.1672-2957.2021.05.013

Research progress in establishing animal models of lumbar intervertebral disc degeneration

Yao Minghe¹, Chen Jiale^{2*}

1. West China School of Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan, China

2. Department of Orthopaedics, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan, China

【Key Words】Lumbar vertebrae; Intervertebral disc degeneration; Model, animal; Review literature

J Spinal Surg, 2021, 19(5): 353-357

腰痛是目前全球首位致残疾病, 给患者、家庭和社会造成极大的痛苦和沉重的负担。与增龄有关的椎间盘退行性变(IDD)是腰痛的最主要原因。随着工作与生活节奏的加快, IDD呈现年轻化的趋势。建立符合IDD规律、成功率高、可重复性好、操作简单、成本低且适合医学研究的IDD动物模型, 对明确腰椎IDD的发生机制及开展防治工作具有一定意义。目前的腰椎IDD动物模型大致可分为自发模型、损伤模型和生物力学模型等, 本文依据以上分类作如下综述。

1 自发模型

自发模型包括自然自发和诱导自发。自然自发模型是指不经特殊处理, 实验动物在成长发育过程中自然发生与人类相似的IDD, 这种模型可避免人为操作因素的干扰, 但只有沙鼠、恒河猴、犬及狒狒等少数动物可满足条件。学者们在研究模型制备方法的同时也在不断扩大实验动物的选择范围, 并发现豚鼠椎间盘的形态学及随年龄增加其髓核内蛋白多糖减少的规律与人类相似, 将其作为动物模型可较客观地模拟自然自发IDD过程^[1]。常用于基

因相关研究的SM/J小鼠, 可较早表现出典型的IDD特征^[2]。但这些特殊动物之间性状差异明显, 退行性变程度不可控, 用于治疗研究可信度差, 多用于IDD发生机制的研究。从而诱导自发模型是通过基因技术敲除实验动物的特定基因, 造成椎间盘特定成分合成、代谢异常, 诱导IDD发生。Chsy3基因敲除小鼠模型诱发的IDD进程相对较缓, 应用于IDD的研究更有优势^[3]。基因敲除模型证明了基因、遗传因素对IDD的影响, 适用于发生机制、药物作用靶点基因层次的研究, 但模型均只涉及某一特定基因, 造成的影响很局限; 另外, 其实验条件要求高、操作复杂、成本高, 不适宜作为工具模型大量使用。另有药物诱导自发模型, 通过向实验动物体内注射D-半乳糖, 造成代谢异常, 引起各器官受损、系统功能衰退等变化, 使椎间盘的结构、生理状况发生变化, 促成椎间盘衰老^[4]。

2 损伤模型

2.1 髓核损伤

损伤髓核方式大体上可分为物理损伤和化学损伤。物理损伤主要是通过髓核摘除或髓核穿刺并抽吸/旋切的方法建立模型。Shi等^[5]在显微镜下使用微型手术刀摘除小鼠椎间盘髓核成功建立模型。用较粗的针头穿刺兔纤维环并抽取髓核^[6-7]、施加负

* 通信作者(Corresponding author)

作者简介 姚明鹤(2000—), 学士在读; hxiisha@163.com

通信作者 陈家磊 dinol219@163.com

压^[8]或用针尖旋切髓核组织^[9]等方式均可成功建立模型。为保持纤维环完整性,可经椎弓根切除部分髓核来建立IDD模型^[10],但有学者认为,此类模型为IDD导致脊柱不稳,而非脊柱不稳造成IDD^[11]。

化学损伤是将木瓜凝乳蛋白酶、软骨素酶ABC、纤连蛋白片段(Fn-f)等化学物质注入椎间盘内^[12-14],引起髓核细胞变性、消融,导致IDD。实验研究^[12]表明,兔腰椎IDD程度随木瓜凝乳蛋白酶注射量增加而加重。将软骨素酶ABC注入大鼠C₇/C₈椎间盘,可以成功建立模型^[13]。将软骨酶ABC注入山羊椎间盘可引起IDD,且退行性变程度随注射剂量增加而加重^[15]。将Fn-f注入兔腰椎椎间盘中心,组织学证据显示,8周时椎间盘开始发生退行性变,分别于8、12周时,聚集蛋白聚糖mRNA、Ⅱ型胶原mRNA表达程度低于对照组^[14]。但化学损伤,其注入量控制困难,建模效果不稳定,且穿刺部位易形成骨赘,化学物质会导致椎间盘组织代谢异常,对药物的作用效果及后期检验指标造成干扰,可靠性欠佳。有学者用0.9%氯化钠溶液注入兔腰椎椎间盘,以避免化学物质干扰,也成功建立了模型^[16]。

2.2 终板损伤

终板是椎间盘营养代谢的通道,同时也是隔绝自身免疫系统攻击的屏障,终板受损会导致椎间盘组织的营养供给阻断,并暴露于免疫系统之下。引发终板损伤的方法主要包括终板穿刺、药物注射和营养阻断等。与切开纤维环、腰椎动静力失稳模型相比,终板穿刺方法造成的退行性变更为平缓。对恒河猴L₅/L₆椎间盘上、下终板分别注入2 mg平阳霉素可成功建立模型^[17]。Yin等^[18]在羊腰椎距上、下终板2 mm处开一道2~3 mm细缝,并填充骨水泥阻断终板营养,48周时观察到髓核细胞成分进行性丢失,软骨终板进行性钙化,封闭的椎间盘内Ⅰ型胶原蛋白增加、Ⅱ型胶原蛋白减少,证明阻断营养途径可以诱导IDD。Fernández-Susavila等^[19]采用终板下钻孔后横向摆动钻头的方式完全破坏终板血液供应,成功建立SD大鼠IDD模型。但Hutton等^[20]对破坏终板结构建立的IDD模型的可信度提出质疑,并使用骨水泥将犬腰椎椎间盘上终板或同位椎间盘上、下终板进行封闭,在70周的观察中并未发现任何明显的IDD现象。

2.3 纤维环损伤

手术切开纤维环是最早的纤维环损伤模型建模方法,造成IDD效果显著,但对纤维环破坏太大,易引起髓核脱出,很快便被纤维环穿刺法取代,其

中经腹膜外穿刺最为常用。用18G针头对L₄/L₅和L₅/L₆椎间盘进行穿刺,可成功建立兔腰椎IDD模型^[21]。结合低温等离子消融技术诱导的IDD过程较单纯穿刺更为缓慢^[22]。随着技术的不断进步,可在透视引导下经皮完成纤维环穿刺术,所建立的兔、犬腰椎IDD模型均有充分影像学及组织学证据,此方法减少了对实验动物的损伤、降低了感染率,但对操作者技术要求更高^[23-24]。与其他损伤模型相比,纤维环穿刺模型不仅造模周期短(2周即可出现IDD现象,腰椎失稳法则需4周^[25]),且损伤程度小,效果确切,可控性好,成功率高,是目前最为常用的模型之一。但其机制本质是急性损伤造成IDD,客观来说未能准确模拟人类IDD的发生机制,造成的IDD过于严重且不可逆,可能会影响对于药物等防治手段治疗腰椎IDD的机制研究。

3 生物力学模型

3.1 异常应力

异常应力模型是通过机械装置向椎间盘施加负荷。鼠的尾椎定位便捷,这使其成为这类实验首选动物。1952年,Lindblom^[26]将鼠尾“U”形固定一段时间后观测到鼠尾凹侧发生IDD,后来学者们根据这一研究不断优化弯曲应力模型^[27],并利用轴向负荷造模。1999年,Iatridis等^[28]设计了Ilizarov-type加压装置,这是研究轴向压缩应力对椎间盘影响的经典静态模式。与针刺损伤法相比,静态加压法造成的IDD病理分级更高^[29]。随着轴向加压装置的精简化,轴向应力模型实现了对加压大小、频次及动态加压的精准控制^[30-32]。但由于鼠尾椎结构细小,置入装置不便,学者们将目光转向体积更大的山羊腰椎,效果也十分理想^[33]。轴向加压装置的反向应用则证实了过度的张力负荷也可诱导IDD^[34]。由于人类独特的直立运动方式,使人类脊柱呈现独特的生理弯曲,这意味着人类的椎间盘承载更多的剪切应力。有研究^[35]表明,剪切应力确实会对椎间盘造成损伤,应用剪切力加载装置可成功构建剪切应力模型。

此类模型选材不受限制,可操作性好,造模周期短,效果稳定。但目前的异常应力模型多研究弯曲、轴向加压、剪切等单一应力对椎间盘的影响,与人体椎间盘日常生理和病理应力情况相比,无论是受力方式还是作用部位,都有明显的区别。同时,鼠尾椎椎间盘与人腰椎椎间盘解剖结构、体积大小相差甚远,不适于进行相关生物治疗研究。在置入装置的过程中易出现局部感染、椎体骨折、脊髓损

伤甚至死亡等情况^[36], 这些均阻碍其成为理想的实验模型。

3.2 直立

对于双后肢直立大鼠模型, 目前采用的是出生2 d~1个月的幼鼠, 造模方法为截去大鼠前肢, 强迫大鼠模拟人类直立行走。Cassidy等^[37]设计的双后肢直立大鼠模型, 结扎出生仅18~36 h的Wistar大鼠的双前肢, 将饲料和水维持在刚刚可得到的位置, 并随大鼠的成长逐渐升高位置, 迫使大鼠使用双后肢站立。截去2月龄SD大鼠双前肢并采用该特殊方法饲养, 处死动物后取L₅/L₆椎间盘检查, 可见IDD明显, 纤维环排列紊乱, 髓核皱缩, 终板不连续, 椎体边缘可见明显增生, 椎间隙高度变小^[38]。

双后肢直立模型的造模时间跨度较大(6~18个月); 实验动物的存活率不等(11.2%~21.0%); 选用大鼠的月龄也有差别。有学者对这种模型建立方法提出质疑, Bailey等^[39]在对双后肢大鼠和正常大鼠(四足鼠)进行的24 h连续对比观察中发现, 双足大鼠直立活动时间并未较正常大鼠增加, 并没有建立真正意义上的“直立”模型。同时, 这种模型建立方法在伦理上也存在争议。实验动物的选材也存在一定局限性, 因较大型动物维持双后肢站立行走难度较大, 目前仅使用大鼠来建立直立模型。

强迫直立模型多选用兔进行造模, 将新西兰大白兔固定于直立管道中4~12周, 可成功诱导IDD发生。造模过程中, 椎间盘内纤维环层状结构逐渐紊乱, 髓核中蛋白多糖减少, 造成椎间盘高度降低, 且组织学改变先于影像学改变^[40]。强迫兔直立的同时, 在兔颈部额外增加600 g负重可加快IDD发生, 14周可成功建立腰椎IDD模型。但作者同时指出, 虽然负重项圈进一步增加腰椎轴向应力, 加速IDD进程, 但实验动物的颈部项圈负重不宜超过其体质量的1/4, 每日加载时间不宜超过6 h, 否则动物可能发生易怒、食欲减退、腹泻等不良反应^[41]。

直立模型历史悠久, 操作简单, 其最大的优势在于改变了实验动物脊柱的生物力学分布, 使其具有与人类腰椎IDD相似的应力环境, 借助增加的异常应力来加速IDD的发生。

3.3 腰椎失稳

人类脊柱主要依靠椎体、关节突关节、附着于其上的肌肉及韧带等组织维持稳定, 脊柱在劳损、外伤和医源性损伤时失去稳定, 即可发生IDD。学者们依据这一理论建立失稳模型, 包括了静力失稳、动力失稳和动静力失稳模型, 模拟人类腰椎

IDD的病理改变。静力失稳模型一般是通过切除腰椎棘上韧带、棘间韧带和关节突关节的方式, 破坏脊柱静力平衡来建模; 放射学和组织学检查结果显示静力失稳模型与人类IDD相似^[42]。动力失稳是通过多节段剥离骶棘肌和关节突附着肌肉或切断竖脊肌直接破坏椎旁肌动力平衡。动静力失稳模型是将以上2种结构全部切除或切断来实现。在建立动静力失稳家兔模型的基础上, 联合额外负重法(在家兔背部压重达体质量1/10的物体), 可以加速建模过程^[43]。腰椎失稳模型可用于模拟姿势、环境因素导致的IDD。

3.4 腰椎融合

腰椎融合模型是通过椎体融合或椎间关节融合的方式, 诱发相邻椎间盘发生退行性变, 达到模拟脊柱融合术后IDD的目的。此类造模方式需要一定体积的椎体, 多选兔作为实验动物。Higashino等^[44]对兔L₃₋₅横突关节进行固定, 影像学检查结果表明, 术后1年椎间盘发生明显退行性变, 而且固定椎体相邻的头侧IDD更加严重。腰椎融合模型主要用于脊柱融合术后邻椎病发生机制的研究。

4 其他模型

石芳芳等^[45]通过结扎兔L_{4,5}左侧节段血管, 造成L₄/L₅椎间盘双侧缺血, L₃/L₄椎间盘单侧缺血, 成功建立兔腰椎IDD模型, 影像学表明IDD程度与缺血程度成正比。杨屈等^[46]的实验表明, 大鼠双侧卵巢摘除术后8周, 椎间盘开始出现明显退行性变, 12周时退行性变更加严重。

5 结语与展望

动物模型能否适用于腰椎IDD发生机制或相关治疗研究, 主要视动物模型与人类腰椎IDD相关性和相似度大小而定。IDD模型的制备已有近80年的历史, 应用的实验动物包括大鼠、小鼠、沙鼠、兔、犬、猪、羊和灵长类动物等。因实验动物脊柱与人类在生长发育、解剖结构、生物力学和生物化学等方面的差异, 及随着年龄增长IDD发生率的变化不同, 至今尚无公认的理想动物模型。灵长类动物与人类亲缘关系最近, 是最理想的模型动物, 但来源稀少、饲养困难, 并涉及伦理等问题, 不适宜广泛应用; 绵羊脊柱及椎间盘的解剖结构与人类差异较大, 力学性能也有所不同^[47]; 犬类IDD的髓核脊索细胞被软骨细胞样细胞替代, 这点与人类相似, 但犬的腰椎椎间盘数量比人类多2个, 且软骨终板比

人类厚^[48];大、小鼠和家兔等小型四足动物椎间盘的内部压力可能与人类相近,且考虑到实验成本等,大、小鼠和家兔仍然是大多数学者的选择^[49]。

学者们通过模拟人类直立、劳损、损伤、医源性损伤等导致IDD的常见因素,成功建立动物腰椎IDD模型。但动物种属及椎间盘解剖形态、生化特性等与人类椎间盘不同,目前的IDD模型只能尽量模拟人类IDD,仍需弥补各自不足。自发模型较为符合IDD发生过程,但重复性较差,退行性变程度不可控。椎间盘损伤模型可控性好,效果确切,但与客观IDD发生过程的符合程度有限。不同于四足动物,人类脊柱的长期直立状态和腰椎生理曲度的存在,使L₄/L₅和L₅/S₁椎间盘处于剪切应力之下,成为IDD发生的主要原因。因此,模拟人类腰椎IDD真实力学环境的直立模型是研究腰椎IDD的可靠模型。但如何快速、有效构建生物力学模型仍需进一步研究。目前对IDD机制的阐释还不是非常理想,如何模拟人体脊柱复杂的生理状态和病理改变,构建出更加符合人类腰椎IDD过程的动物模型仍是今后工作的重点。

参考文献

- [1] 宋庆慧. 独活寄生汤对Hartley豚鼠椎间盘退变干预的研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2009.
- [2] Choi H, Tessier S, Silagi ES, *et al.* A novel mouse model of intervertebral disc degeneration shows altered cell fate and matrix homeostasis[J]. *Matrix Biol*, 2018, 70: 102-122.
- [3] 魏磊鑫. 硫酸软骨素合成酶3敲除小鼠的高效构建及其在椎间盘退变中的研究[D]. 上海: 海军军医大学, 2019.
- [4] 邢秋娟, 赵东峰, 崔学军, 等. 益气化痰补肾方对D-半乳糖诱导小鼠腰椎间盘衰老的影响[J]. *上海中医药大学学报*, 2012, 26(2): 60-67.
- [5] Shi C, Das V, Li X, *et al.* Development of an *in vivo* mouse model of discogenic low back pain[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(10): 6589-6602.
- [6] 邵辉, 卞正君, 孙建华. 纤维环穿刺髓核抽吸法建立兔椎间盘退变模型[J]. *石河子大学学报(自然科学版)*, 2015, 33(1): 97-101.
- [7] 白亦光, 韩小伟, 张旭乾, 等. 穿刺抽吸法诱导兔椎间盘退变模型[J]. *川北医学院学报*, 2013, 28(2): 91-94.
- [8] Kim DW, Chun HJ, Lee SK. Percutaneous needle puncture technique to create a rabbit model with traumatic degenerative disk disease[J]. *World Neurosurg*, 2015, 84(2): 438-445.
- [9] 谭伟伟, 何升华, 孙志涛, 等. 微创针刺旋切制备兔椎间盘退变模型[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2016, 30(3): 343-347.
- [10] Vadalà G, Russo F, De Strobel F, *et al.* Novel stepwise model of intervertebral disc degeneration with intact annulus fibrosus to test regeneration strategies[J]. *J Orthop Res*, 2018, 36(9): 2460-2468.
- [11] 周松, 李锋, 陈安民, 等. 抽吸法诱导兔椎间盘退变模型的病理及影像表现[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(46): 9125-9128.
- [12] Gullbrand SE, Ashinsky BG, Martin JT, *et al.* Correlations between quantitative T2 and T1ρ MRI, mechanical properties and biochemical composition in a rabbit lumbar intervertebral disc degeneration model[J]. *J Orthop Res*, 2016, 34(8): 1382-1388.
- [13] 王炎, 王琨, 吴小涛. 软骨素酶ABC诱导大鼠尾椎间盘退变的实验研究[J]. *中国生化药物杂志*, 2015, (1): 14-16, 20.
- [14] 王娜, 吴成爱, 赵丹慧, 等. 应用纤连蛋白片段建立椎间盘退变动物模型[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2013, 23(1): 47-53.
- [15] Gullbrand SE, Malhotra NR, Schaer TP, *et al.* A large animal model that recapitulates the spectrum of human intervertebral disc degeneration[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2017, 25(1): 146-156.
- [16] 陈铁柱, 王宁科, 李晓声. 腰痹舒干预腰椎间盘退变模型兔髓核组织水通道蛋白1、水通道蛋白3的表达[J]. *中国组织工程研究*, 2020, 24(8): 1168-1173.
- [17] 魏富鑫, 王乐, 周治宇, 等. 恒河猴腰椎间盘缺血性退变模型的建立[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2014, 28(4): 485-490.
- [18] Yin S, Du H, Zhao W, *et al.* Inhibition of both endplate nutritional pathways results in intervertebral disc degeneration in a goat model[J]. *J Orthop Surg Res*, 2019, 14(1): 138.
- [19] Fernández-Susavila H, Pardo-Seco JP, Iglesias-Rey R, *et al.* Model of disc degeneration in rat tail induced through a vascular isolation of vertebral endplates[J]. *J Invest Surg*, 2018, 31(4): 265-274.
- [20] 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.
- [21] Luo TD, Marquez-Lara A, Zabarsky ZK, *et al.* A percutaneous, minimally invasive annulus fibrosus needle puncture model of intervertebral disc degeneration in rabbits[J]. *J Orthop Surg (Hong Kong)*, 2018, 26(3): 1-7.

- 2309499018792715.
- [22] 周葳, 徐义春, 骆众星, 等. 低温等离子消融术建立兔椎间盘退变模型的实验研究[J]. 中国临床解剖学杂志, 2013, 31(6): 696-701.
- [23] 王珏, 张雷, 刘杨青, 等. 经皮微创纤维环穿刺法制作兔椎间盘退变模型[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(15): 1579-1582.
- [24] 彭俊, 徐建广. 犬椎间盘经皮针刺退变模型的建立[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(24): 4463-4466.
- [25] 黄河, 李宁宁, 胡朝晖, 等. 纤维环穿刺法与腰椎失稳法建立椎间盘退变模型[J]. 中国现代医生, 2011, 49(16): 22-24, 封3.
- [26] Lindblom K. Experimental ruptures of intervertebral discs in rats' tails; a preliminary report[J]. J Bone Joint Surg Am, 1952, 34-A(1): 123-128.
- [27] Xia W, Zhang LL, Mo J, *et al.* Effect of static compression loads on intervertebral disc: an *in vivo* bent rat tail model[J]. Orthop Surg, 2018, 10(2): 134-143.
- [28] Iatridis JC, Mente PL, Stokes IA, *et al.* Compression-induced changes in intervertebral disc properties in a rat tail model[J]. Spine (Phila Pa 1976), 1999, 24(10): 996-1002.
- [29] 徐海栋, 刘晓伟, 史新瑞, 等. 大鼠尾椎椎间盘退变静态压力模型的构建[J]. 脊柱外科杂志, 2017, 15(6): 348-350, 356.
- [30] Hirata H, Yurube T, Kakutani K, *et al.* A rat tail temporary static compression model reproduces different stages of intervertebral disc degeneration with decreased notochordal cell phenotype[J]. J Orthop Res, 2014, 32(3): 455-463.
- [31] 孙春光, 周其佳, 孙月柏, 等. 大鼠尾椎椎间盘退变模型的建立及磁共振检查[J]. 中国医药导报, 2015, 12(7): 29-32.
- [32] 王琦, 李广, 张载清, 等. 自行设计轴向量化加压装置模拟正加速度致兔椎间盘退变模型的建立[J]. 空军医学杂志, 2014, 30(1): 8-11.
- [33] 宋西正, 康禹, 胡磊, 等. 可控应力轴向诱导山羊腰椎间盘退变的实验研究[J]. 中南医学科学杂志, 2018, 46(1): 37-41.
- [34] 肖良, 徐宏光, 沈祥. 张力载荷诱导下兔椎间盘退变体内模型的建立及意义[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(12): 1877-1882.
- [35] 林胜磊, 王雍力, 徐泓明, 等. 剪切应力对椎体终板的影响[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2015, 25(3): 245-251.
- [36] 顾韬, 阮狄克. 生物力学因素对椎间盘退变的影响及机理[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2011, 21(6): 523-526.
- [37] Cassidy JD, Yong-Hing K, Kirkaldy-Willis WH, *et al.* A study of the effects of bipedism and upright posture on the lumbosacral spine and paravertebral muscles of the Wistar rat[J]. Spine (Phila Pa 1976), 1988, 13(3): 301-308.
- [38] 姚啸生, 王禹, 荆涛, 等. 活血补肾方对大鼠退变腰椎间盘mTOR通路依赖性自噬的影响[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21(7): 1384-1392.
- [39] Bailey AS, Adler F, Min Lai S, *et al.* A comparison between bipedal and quadrupedal rats: do bipedal rats actually assume an upright posture?[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2001, 26(14): E308-E313.
- [40] 张超, 李宁宁, 胡朝晖. 间断直立位下兔椎间盘退变模型的影像及病理表现[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(4): 679-682.
- [41] Bai X, Wang D, Zhou M, *et al.* Noninvasive cumulative axial load may induce intervertebral disc degeneration—A potential rabbit model[J]. Exp Ther Med, 2017, 13(4): 1438-1446.
- [42] Oichi T, Taniguchi Y, Soma K, *et al.* A mouse intervertebral disc degeneration model by surgically induced instability[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2018, 43(10): E557-E564.
- [43] 吕存贤, 吴永琴. 补阳还五汤对兔退变椎间盘软骨终板Fas/FasL表达的影响[J]. 中国中医药科技, 2012, 19(3): 214-215.
- [44] Higashino K, Hamasaki T, Kim JH, *et al.* Do the adjacent level intervertebral discs degenerate after a lumbar spinal fusion? An experimental study using a rabbit model[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2010, 35(22): E1144-E1152.
- [45] 石芳芳, 陈琪, 刘东光, 等. 新型兔腰椎间盘缺血退变模型的建立[J]. 临床骨科杂志, 2018, 21(6): 744-748.
- [46] 杨届, 吴官保, 冯帅华, 等. 补肾活血汤对去势后大鼠腰椎间盘p38MAPK蛋白含量影响的研究[J]. 中医药导报, 2017, 23(2): 17-20.
- [47] Bashkuev M, Reitmaier S, Schmidt H. Is the sheep a suitable model to study the mechanical alterations of disc degeneration in humans? A probabilistic finite element model study[J]. J Biomech, 2019, 84: 172-182.
- [48] Bergknut N, Rutges JP, Kranenburg HJ, *et al.* The dog as an animal model for intervertebral disc degeneration?[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2012, 37(5): 351-358.
- [49] 李慧莹, 单志婧, 翟志超, 等. 腰椎间盘突出症动物模型的研究进展[J]. 中国疼痛医学杂志, 2015, 21(1): 64-66, 68.

(接受日期: 2020-08-06)

(本文编辑: 张建芬)