

· 综 述 ·

腰椎间盘突出退变及突出动物模型研究进展

俞鹏飞¹, 姜宏², 刘锦涛², 李晓春³

(1. 南京中医药大学 2009 级硕士研究生, 江苏 南京 210046; 2. 江苏省苏州市中医医院, 江苏 苏州 215003; 3. 上海中医药大学, 上海 201203)

关键词 腰椎 椎间盘移位 模型, 动物 综述

腰椎间盘突出、突出是引起腰腿痛的重要原因。目前对椎间盘退变及突出的确切机制尚未完全明了。通过建立动物模型, 可以从形态学、生物力学、生物化学、组织学、细胞学、免疫学、影像学、基因学等多角度、多方面对腰椎间盘突出和突出进行详尽的研究, 并能探索其病因及发病机制。建立腰椎间盘突出退变及突出动物模型的方法有很多, 本文对近年来动物模型建造方法的研究进展综述如下。

1 直接损伤模型

1.1 切割损伤模型 1948 年 Key 等曾对 14 只成年犬行腰椎“开窗”术, 摘除椎间盘后部的纤维环并刮除髓核和软骨终板, 建立了椎间盘退变的切割损伤模型。此后, 该方法被众多学者广泛采用, 并逐步改进。直至今日, 此法仍为建立腰椎间盘突出退变和突出模型的经典方法之一。近年来, 郭常安等^[1]以与人类亲缘关系密切的恒河猴为模型动物, 由椎间盘左前外侧作平行于上下终板的切口, 术后 8~20 周在 MRI 上发现椎间盘的退变。李振宙等^[2]采用特制微型环锯定位、定量锯除山羊椎间盘组织, 术后 2 个月通过影像学和组织学证实手术椎间盘出现髓核退变, 继发内纤维环破裂、髓核突出等, 继而髓核内出现明显的软骨化和纤维化。切割损伤模型因手术暴露充分、操作较简单、切口大小易于掌握、重复性较好, 同时能够对损伤、损伤方式与退变(突出)的关系以及椎间盘退变顺序进行进一步证实, 而得到了广泛的应用。但是要注意避免造模时切割过深所致的纤维环破裂、髓核急性突出, 应严格掌握切割深度。无论何种入路进入纤维环, 均会引起较大的手术创伤, 尤其是小型动物, 手术会使一部分动物死亡, 这是该类造模方法的一大缺陷。因此, 宜选择羊、猪、猴等较大型的动物, 但成本较高。

1.2 针刺损伤模型 王靖等^[3]运用穿刺针从左前外侧刺入新西兰大白兔的椎间盘纤维环, 深度 5 mm, 术后通过 MRI 检查及免疫组化染色证明出现了椎间盘退变的病理过程, 成功制造出椎间盘退变模型。崔力扬等^[4]用 21 G 穿刺针对大鼠分别行纤维环部分针刺和全层针刺, 得到不同程度的腰椎退变模型。此外, 对软骨终板的针刺损伤也会引起椎间盘的退变, Holm 等^[5]在家猪椎体终板上进行穿刺, 3 个月后发现纤维环含水量和髓核蛋白多糖含量明显减少。针刺损伤模型操作较简便, 重复性好, 且模型动物的椎间盘随时间变化缓慢退变, 符合人类椎间盘退变过程。但穿刺针的型号、进针的深度需要进行精确计算, 对终板的破坏程度难以掌握, 损伤后立即出现的相关病理变化如 Schmorl 结节、真空现象、modic 改变、局部出血及肉芽组织形成等会影响观察的结果。而且, 该造模方法常采用腹部切口, 创伤较大, 术后动物的存活率难以保证。

1.3 化学损伤模型 适当剂量的髓核化学溶解剂可以选择性地降解蛋白多糖、减少椎间盘容积, 减轻受累神经根的压力, 已在椎间盘突出治疗中广泛应用。髓核溶解剂也能导致正常椎间盘的退变, Lotz^[6]在直视下对每个椎间盘髓核内注射木瓜凝乳蛋白酶, 3 周后 X 线示注射椎间隙变窄, MRI 示 T2 加权相信号强度降低, 提示椎间盘退变。Norcross 等^[7]的研究表明软骨素酶 ABC(C-ABC)有与木瓜凝乳蛋白酶相似的作用。这类造模方法的优点是不需行开放性手术, 创伤小、操作简单; 缺点是髓核内注射的物质可能影响以后生物化学检测的准确性, 且退变发生较快, 损害大, 难以通过控制注射剂量调控退变程度。近年来, 有实验证明^[8]向兔腰椎间盘内注射纤维结合蛋白碎片(Fn), 8~16 周后可见聚集蛋白聚糖和 II 型胶原 mRNA 显著下调。胡宝山等^[9]也运用类似的方

法造模,并认为 120 kDa 的 Fn 片段能促进诱导和促进基质金属蛋白酶的表达,诱导 I 型胶原的表达,引起椎间盘退变。这种方法与传统的髓核化学溶解造模法相比,具有退变周期较长、更接近于人类椎间盘真实退变过程的优点,但其可重复性还有待证实。

2 间接损伤模型

2.1 机械型模型 不直接破坏脊柱的完整性,而是通过改变动物的姿势,使脊柱受力情况改变,应力在椎间盘中重新分配,导致退变和突出,称为机械型模型,以 Cassidy 法最为经典。该方法通过截除大鼠双上肢和尾部,迫使大鼠必须依靠仅有的双后肢站立才能取到食物,由此改变脊柱的受力,造成腰椎间盘突出模型。吴靖平等^[10]用双后肢普通大鼠建立椎间盘退变动物模型,发现双后肢大鼠的脊索细胞退变比正常老年大鼠更严重,椎间盘的退变与人类相一致,但术后 18 个月模型动物存活率仅 11.2%。卞琴等^[11]通过实验观察到长期直立位体会导致大鼠腰椎边缘骨质增生、退变。熊晓芊等^[12]制作的可控轴向压力兔腰椎间盘退变模型,通过 MRI 检查及组织学测定证实压力越大退变越严重。双后肢大鼠在不同姿势时对下腰椎的剪切应力是正常大鼠的数倍,与人类椎间盘退变具有相似的应力环境(突出了重力的影响),异常增加的应力加速了椎间盘的退变。此造模方法虽然历史悠久,但由于其操作简单、不直接损伤椎间盘结构,现在仍被很多学者使用。该类模型适用于以小型动物腰尾部椎间盘为研究对象、对负荷导致的腰椎间盘突出症、腰椎管狭窄症等椎间盘退变性疾病的研究。最大的优势在于考虑到了重力因素对椎间盘的重要影响,更接近于真实的退变情况。

2.2 脊柱不稳模型 采用手术破坏脊柱的一些支持结构如关节突、棘突等,使脊柱不稳定,产生过度运动,对椎间盘造成间接应力,触发退变。陈德胜等^[13]采用手术方法切除大鼠腰椎棘突、关节突、棘上棘间韧带,切断双侧竖脊肌,造成脊柱失稳,术后 X 线表现为椎体不稳、椎间隙楔形变或狭窄、软骨终板钙化,成功建立大鼠腰椎间盘退变模型。另外还有一种脊柱不稳模型,是通过进行椎体融合或椎间关节融合而实现退变的^[14]。关节突切除模型尤其适用于姿势或环境因素导致的腰椎退变性疾病的研究,而且骨赘形成明显,适于骨赘形成机制的研究。而椎体融合模型因其手术的特殊性,除了一般退变机制的研究外,更适

用于脊柱固定术后椎间盘退变的研究。

3 神经根压迫模型

3.1 异物压迫模型 李晨光等^[15]手术切除大鼠 L₄、L₅ 棘突,咬除椎板及右侧关节突后,暴露马尾及 L₅ 神经根,将硅胶片置于 L₅ 神经根和硬膜囊连接处,通过观察造模后大鼠的比目鱼肌重量及神经营养因子的变化,证实该方法可成功造成椎间盘突出模型。由于神经根被压迫,血运受阻,组织缺氧,静脉回流障碍,出现局部水肿、瘀滞,诱发毒性代谢产物的产生、积聚,若进一步发展,则出现神经纤维变性等病理变化。神经根压迫造模虽能较好地再现椎间盘突出后的压迫状态,并刺激神经根产生无菌性炎症反应,但由于现在机械压迫学说已不能完全解释腰椎间盘突出症的发病机制,炎症的刺激物又与实际情况有所差别,限制了此方法的应用。另外,该造模方法也有对损伤程度不易控制等缺点,还有待改进。

3.2 自体髓核移植模型 此类模型是通过注射或手术的方法将自体髓核移植到脊神经根和硬脊膜之间,模拟腰椎间盘突出症。Kawakami 等^[16-17]经腰椎后路切除大鼠椎板后将自体髓核移植于硬膜外腔,建立腰椎间盘突出症模型;还通过截断大鼠尾骨,取出尾椎髓核,植入右侧 L₅ 神经根背侧,制造腰椎间盘突出症模型。周渝等^[18]采用自体髓核移植至背根神经节 + 铬制肠线环扎神经根的方法,建立大鼠根性神经痛模型,并通过实验证实该法能较好地引起根性神经痛的发生。姜宏等^[19]将大鼠尾椎椎间盘植入其椎管切开处,使之接触血运,造成脊髓相应受压,造成符合后纵韧带破裂型或游离型病理学特点的椎间盘突出模型,并且将此模型用于中药对椎间盘突出后重吸收影响的研究。此类方法造成的模型较真实地模拟了腰椎间盘突出后的解剖及病理变化,对机械压迫、血供障碍、炎症刺激、免疫反应等各种假说都能做出较好的解释,成为目前研究腰椎间盘突出症的主流动物模型。但此方法的缺点除了手术创伤外,还有对手术的技术要求较高,且所引起的椎间盘退变与真实情况有较大差别,故不适用于对退变的研究。

4 其他模型

Sakai 等^[20]采用 21 G 穿刺针连接注射器抽吸髓核建立椎间盘髓核抽吸退变模型。此方法没有破坏椎间盘的生理屏障,不引起免疫反应,为干细胞、髓核细胞移植提供了一个较为理想的模型基础。但髓核

组织丢失、发生退变的过程与自然退变有较大差别,不能全面反映椎间盘退变的机制。人类的椎间盘退变是自发的过程,许多动物也可因环境、饮食、营养状况等影响自发发生椎间盘退变,Melrose 等^[21]利用这种特点设计出了自发性退变模型。但由于其无法真正明确退变原因,难以预测退变发生率,故可行性较差。另外,随着基因技术的发展,一部分椎间盘退变的模型可以通过基因手段来调控,如通过诱导基因突变,应用杂合敲除技术使相关基因失活等造模方法^[22]。但因基因突变及转基因技术尚未成熟,存在

制备困难、可控性较差、实验方法难以掌握等因素,该方法尚未推广使用。此外还有吸烟模型^[23]、营养障碍模型^[24]等的报道,但其应用比较有限。

5 评析与展望

理想的腰椎间盘退变及突出的动物模型应包括以下几个方面^[25]:①能再现椎间盘退变及突出的病理变化过程;②有良好的可重复性;③所选动物的解剖生理特点尽可能与人类接近。除此之外,还应考虑实验周期以及可操作性、经济性等因素。以上所述腰椎间盘退变及突出造模方法的优缺点,总结如表 1。

表 1 各种腰椎间盘退变及突出造模方法优缺点比较

类型	病变过程	符合客观	重复性	操作性	周期	成本
直接损伤模型						
切割损伤模型	退变—突出	部分符合	好	较难	较长	高
针刺损伤模型	退变—突出	部分符合	好	中等	较长	较高
化学损伤模型	退变—突出	差距大	一般	较简单	较短	一般
神经根压迫模型						
异物压迫模型	突出—退变	差距大	一般	较难	短	一般
自体髓核移植模型	突出—退变	较符合	好	较难	短	一般
间接损伤模型						
机械型模型	退变—突出	较符合	一般	较简单	长	较高
脊柱不稳模型	退变—突出	较符合	较好	较难	长	一般
其他模型						
自发性退变模型	退变—突出	符合	差	简单	长	一般
基因模型	退变—突出	符合	差	困难	短	高

自 1933 年 Lob 通过损伤兔腰椎纤维环造出腰椎间盘退变模型以来,腰椎间盘退变与突出的造模方法得到了长足的发展和进步。各类模型采用不同的研究手段,为研究腰椎间盘退变与突出的发病机制与治疗方法提供了许多可靠的实验依据。然而,由于人椎间盘退变及突出病理变化的复杂性,目前还很难找到一种公认的、能够完全模拟人体真实情况、重复性好的动物模型。但随着研究的进一步深入,动物模型与人类之间存在的相关性和可比性正在逐渐明确,此类模型的设计更趋于多种造模原理的综合,使之更接近于人类腰椎间盘退变及突出的真实情况。相信随着医疗、科技水平的进步,特别是基因技术及计算机模拟技术的发展,腰椎间盘退变及突出动物模型的建立方法将会取得更大发展。

6 参考文献

[1] 郭常安,胡有谷,吴新彦,等. 腰椎间盘退变动物模型的建立[J]. 中华外科杂志, 2000,38(7):548-551.
[2] 李振雷,侯树勋,刘宁,等. 新型山羊腰椎间盘突出模型的建立[J]. 中华骨科杂志,2007,27(11):833-843.

[3] 王靖,唐天驷,姚啸声,等. 纤维环穿刺诱导椎间盘退变动物模型的实验研究[J]. 中国脊柱脊髓杂志,2006,16(4):284-288.
[4] 崔力扬,刘尚礼,丁悦,等. 大鼠腰椎间盘针刺退变模型的建立[J]. 中国矫形外科杂志,2007,15(13):1008-1011.
[5] 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.
[6] Lotz JC. Animal models of intervertebral disc degeneration: lessons learned[J]. Spine,2004,29(23):2742-2750.
[7] Norcross JP,Lester GE,Weinhold P,et al. An in vivo model of degenerative disc disease[J]. J Orthop Res, 2003, 21(1):183-188.
[8] Greg AD,Li X,Tannoury T,et al. A fibronectin fragment stimulates intervertebral disc degeneration in vivo[J]. Spine,2003,28(20):2338-2345.
[9] 胡宝山,丁悦,李春海,等. 新型兔腰椎间盘退变模型的建立[J]. 中国临床解剖杂志,2006,24(5):546-549.
[10] 吴靖平,陈统一,陈中伟,等. 双后肢大鼠椎间盘退变动物模型的建立[J]. 中华实验外科杂志,2004,21(1):105-107.

- 治疗桡骨茎突狭窄性腱鞘炎[J]. 牡丹江医学院学报, 2008, 29(3): 53-54.
- [8] 张家彪. 按摩治疗桡骨茎突部狭窄性腱鞘炎 72 例的临床疗效观察[J]. 按摩与导引, 2009, 25(5): 37.
- [9] 周南. 推拿治疗桡骨茎突狭窄性腱鞘炎 20 例[J]. 中医外治, 2009, 18(3): 62.
- [10] 王华. 强刺激推拿治疗桡骨茎突狭窄性腱鞘炎 128 例临床分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2008, 7(2): 136-137.
- [11] 蓝爱国, 郭健红, 陈强. 推拿结合痛点封闭治疗桡骨茎突狭窄性腱鞘炎 23 例[J]. 中医正骨, 2009, 21(11): 52-53.
- [12] 林勇, 胡年宏, 郑红霞. 封闭加推拿治疗桡骨茎突狭窄性腱鞘炎的体会[J]. 中国社区医师: 医学专业半月刊, 2009, 11(20): 128.
- [13] 郭强, 杨晓, 余悦, 等. 法斯通凝胶治疗桡骨茎突狭窄性腱鞘炎[J]. 实用医学杂志, 2010, 26(2): 182.
- [14] 姜宏波. 老年桡骨茎突狭窄性腱鞘炎治法分析[J]. 长春中医药大学学报, 2007, 23(6): 76.
- [15] 廖政梅, 黎捍华. 王不留行局部外敷治疗桡骨茎突狭窄性腱鞘炎[J]. 江西医药, 2005, 40(2): 116.
- [16] 叶志强. 桂枝芍药知母汤治疗腱鞘炎 21 例[J]. 中国乡村医药杂志, 2007, 14(3): 57.
- [17] 程静, 李杰. 针灸治疗狭窄性腱鞘炎 78 例[J]. 中医外治杂志, 2007, 16(2): 40-41.
- [18] 李锦鸣. 针灸治疗腱鞘炎 70 例[J]. 云南中医中药杂志, 2010, 31(2): 44.
- [19] 何联民. 针刀、阻滞、手法综合治疗桡骨茎突狭窄性腱鞘炎 52 例[J]. 针灸临床杂志, 2009, 25(11): 27-28.
- [20] 丁英奇, 段永刚, 李耀华, 等. 小针刀治疗腱鞘炎并发症临床分析[J]. 河北北方学院学报: 医学版, 2007, 24(3): 67-68.
- [21] 贾翠霞, 王军. 二鸟离子导入治疗桡骨茎突腱鞘炎 30 例[J]. 湖北中医杂志, 2000, 22(2): 46.
- [22] 康雄. 温针加特定电磁波照射治疗桡骨茎突狭窄性腱鞘炎疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(32): 4796-4797.
- [23] 董利强. 正反阿是穴注射配合 TDP 照射治疗桡骨茎突狭窄性腱鞘炎 30 例[J]. 中医外治杂志, 2009, 18(5): 13.
- [24] 易传军, 田光磊, 李忠哲, 等. 单纯切开拇短伸肌腱鞘治疗桡骨茎突狭窄性腱鞘炎[J]. 中华骨科杂志, 2005, 25(10): 626-628.
- [25] 张百挡, 牛维, 邵敏, 等. 中西医结合治疗桡骨茎突狭窄性腱鞘炎 31 例[J]. 中医正骨, 2006, 18(12): 29-30.

(2010-08-19 收稿 2010-10-18 修回)

(上接第 35 页)

- [11] 卞琴, 梁倩倩, 侯炜, 等. 长期直立与大鼠腰椎骨质增生的关系[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2009, 19(1): 60-64.
- [12] 熊晓芊, 邵增务, 裴洪, 等. 可控轴向压力致免腰椎间盘退变模型的建立及评价[J]. 中国病理生理杂志, 2008, 24(10): 2077-2080.
- [13] 陈德胜, 金群华, 李燕, 等. 一种大鼠腰椎间盘退变模型的建立[J]. 中华实验外科杂志, 2006, 23(4): 625-626.
- [14] Phillips FM, Reuben J, Wetzel FT. Intervertebral disc degeneration adjacent to a lumbar fusion. An experimental rabbit model[J]. J Bone Surg Br, 2002, 84(2): 289-294.
- [15] 李晨光, 侯莉娟, 王拥军. 腰痛宁对腰椎间盘突出模型大鼠比目鱼肌 BDNF 和 NT-3 蛋白表达的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2009, 17(4): 8-10.
- [16] Kawakami M, Tamaki T, Hayashi N, et al. Mechanical compression of the lumbar nerve root alters pain-related behaviors induced by the nucleus pulposus in the rat [J]. J Orthop Res, 2000, 18(2): 257-264.
- [17] Kawakami M, Tamaki T, Matsumoto T, et al. Role of leukocytes in radicular pain secondary to herniated nucleus pulposus[J]. Clin Orthop Relat Res, 2000, 376: 268-277.
- [18] 周渝, 王玲, 陈丙波, 等. 一种新型大鼠腰椎间盘突出症动物模型的建立[J]. 中国比较医学杂志, 2006, 16(9): S4.
- [19] 姜宏, 刘锦涛, 惠初华, 等. 黄芪对破裂型椎间盘突出重吸收动物模型的影响[J]. 中国骨伤, 2009, 22(3): 205-207.
- [20] Sakai D, Mochida J, Yamamoto Y, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells embedded in Atelocollagen gel to the intervertebral disc: a potential therapeutic model for disc degeneration[J]. Biomaterials, 2003, 24(20): 3531-3541.
- [21] Melrose J, Taylor TK, Ghosh P. Variation in intervertebral disc serine proteinase inhibitory proteins with ageing in a chondrodystrophoid (beagle) and a non-chondrodystrophoid (greyhound) canine breed [J]. Gerontology, 1996, 42(6): 322-329.
- [22] Sahlman J, Inkien R, Hirvonen T, et al. Premature vertebral endplate ossification and mild disc degeneration in mice after inactivation of one allele belonging to the Col2a1 gene for Type II collagen[J]. Spine, 2001, 26(23): 2558-2565.
- [23] Oda H, Matsuzaki H, Tokuhashi Y, et al. Degeneration of intervertebral discs due to smoking: experimental assessment in a rat-smoking model [J]. J Orthop Sci, 2004, 9(2): 135-141.
- [24] Werf MJ, Lezu P, Maissen O, et al. Decreased diffusion as a result of perfusion block in the ovine lumbar spine: a future model for disc degeneration [R]. Proceedings of the 52nd annual meeting of the orthopaedic research society. The Orthopaedic Research Society, Chicago, USA, 2006: 1234.
- [25] 胡有谷. 腰椎间盘突出症[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 213-230.

(2010-05-16 收稿 2010-07-01 修回)