

· 学术探讨 ·

适宜中医药研究的椎间盘退变动物模型的构建

夏炳江¹, 童培建²

(1. 浙江省绍兴市中医院, 浙江 绍兴 312300;

2. 浙江中医药大学附属第一医院, 浙江 杭州 310006)

摘要 动物模型是动物实验研究的关键因素, 构建适宜的椎间盘退变动物模型是开展中医药治疗椎间盘退变性疾病研究的重要环节。本文对椎间盘退变动物模型和中医证候动物模型的特点及构建方法进行了论述, 并从动物选择、造模方法及模型评价等方面对椎间盘退变病证结合动物模型的构建进行探讨, 以期对构建适宜中医药研究的椎间盘退变动物模型提供思路。

关键词 椎间盘退行性变; 模型; 动物; 中医药研究

椎间盘退变是颈椎病、腰椎间盘突出症等多种脊柱疾病的根本病理变化, 其确切病因及病理机制尚不完全明确。中医学认为椎间盘退变性疾病多属虚证或虚中夹实证, 基本病机为“气虚血瘀、本虚标实”^[1]。中医基本证型包括气虚证、血瘀证及气虚血瘀证。中医药治疗椎间盘退变性疾病有独特优势, 但要进一步探讨这些疗法的作用机制或对其有效性和安全性进行验证, 还需进行大量的动物实验。因此, 构建适宜于中医药研究的椎间盘退变动物模型具有重要意义。笔者对椎间盘退变动物模型和中医证候动物模型的特点及构建方法进行了论述, 并从动物选择、造模方法及模型评价等方面对椎间盘退变病证结合动物模型的构建进行探讨, 以期对构建适宜中医药研究的椎间盘退变动物模型提供思路。

1 椎间盘退变动物模型的构建

根据不同的构建方法, 目前椎间盘退变动物模型可分为以下几类: ①应力改变模型。通过人为施加异常应力导致椎间盘结构破坏形成退变^[2]。②脊柱失稳模型。通过破坏脊柱的静态与动态平衡, 造成脊柱节段过度运动, 产生脊柱不稳, 从而诱发椎间盘退变^[3]。③机械损伤模型。通过损伤椎间盘的解剖结构诱发椎间盘退变, 主要包括纤维环损伤模型、终板损伤模型和髓核损伤模型^[4]。④化学损伤模型。通过注射酶类等化学物质诱导椎间盘髓核细胞死亡、基质蛋白多糖分解, 模拟椎间盘退变的病理过程^[5]。

⑤基因敲除模型。通过敲除特定基因, 如 Col2a1 基因, 使动物表现出与人类相似的椎间盘退行性改变, 如终板不规则增厚, 纤维环、终板内蛋白多糖含量降低等^[6]。⑥自发性椎间盘退变模型。随着动物生存时间的延长, 自身出现与人类相似的椎间盘退变表现^[7]。

2 中医证候动物模型的构建

中医证候动物模型是在中医学整体观念和辨证论治思想指导下, 运用藏象学说和病因病机理论, 把人类疾病的某些特征在动物身上模拟复制而成^[8]。中医证候动物模型构建方法主要有以下 4 种^[9]: ①病因型模型构建法。②症状型模型构建法。③病理型模型构建法。④病因病理结合型模型构建法。

3 椎间盘退变病证结合动物模型的构建

中医学“辨证论治”的基本思想决定了“证候”研究的重要性。单纯的椎间盘退变动物模型用于中医药治疗椎间盘退变性疾病的研究不能体现中医学“辨证论治”的思想, 不适用于对中医药疗法作用机制的研究。中医证候动物模型虽然较西医学中的疾病动物模型更符合中医药研究的特点, 但也存在着诸多问题, 如“异病同证”问题。因此, 脱离“证候”的疾病模型和脱离“疾病”的证候模型均不适宜于中医药治疗椎间盘退变性疾病的实验研究。适宜中医药研究的动物模型应以疾病模型为基础, 同时引入“证候”元素, 即构建病证结合的动物模型。该类模型由于“疾病”的限制, 可使原本具有多种不确定因素的“证候”元素变得更清晰^[10]。

3.1 动物选择 目前有十几种动物被应用于构建椎间盘退变模型, 包括鼠、兔、犬、猪、羊、牛及猴、猩猩等灵长类动物等。灵长类动物的椎间盘在生理构造和

基金项目: 浙江省中医药科技计划项目 (2016ZB132); 浙江省绍兴市科技计划项目 (2015B70060)

通讯作者: 夏炳江 E-mail: xiahj2006@163.com

生物力学特性等方面和人类最为接近,但由于受到动物来源、伦理学要求、研究经费及实践操作等因素限制,较少应用于椎间盘退变动物模型的构建。猪、羊等大型哺乳类动物也因价格昂贵、饲养困难等因素难以大规模应用于动物模型构建。目前,鼠和兔是制作椎间盘退变模型最为常用的动物,具有物种纯正、来源多、易饲养及价格低廉等优点,但存在椎间盘的生理构造及生物力学特性与人类不完全一致等缺点。

3.2 造模方法

3.2.1 辨证分型造模 过度疲劳是颈椎病、腰椎间盘突出症等椎间盘退变性疾病的诱发和加重因素,应用疲劳法可构建出椎间盘退变的气虚证动物模型^[11]。寒凝则血瘀,风寒等低温刺激亦可导致椎间盘退变的发生,复制出血瘀证模型^[12]。

3.2.2 病证叠加造模 病证叠加造模是在西医学和中医学理论等指导下,序贯或同时采用西医学和中医学病因干预实验动物,使动物同时表现出“疾病”和“证候”特征的模型构建方法^[13]。这种造模方法目前已被广泛采用,但由于造模过程中不同干预因素之间相互干扰,可能使干预因素作用的结果发生改变。此外,在已构建成功的疾病或证候动物模型上,再次施加干预因素,可能使原动物模型发生变化,导致“疾病”与“证候”难以同时体现在模型上^[14]。因此,构建椎间盘退变病证结合动物模型,应先建立稳定性较好的椎间盘退变疾病模型,然后复合相对不稳定的气虚、血瘀及气虚血瘀证候模型,“证”被“病”限制,可使许多繁杂模糊的因素变得明晰、容易控制,同时也符合先辨“病”后辨“证”的临床思路。而采用椎间盘纤维环粗针穿刺、髓核抽吸、终板损伤等方法构建椎间盘退变模型的过程中也会损伤气血。因此,若在疾病模型构建成功后,不施加人为干预因素,动态观察该模型是否具备中医学某些“证候”的特点,进而将其确定为某一特定的病证结合模型,或许可避免干预因素过多对动物模型的干扰,同时也在理论上保证了“疾病”和“证候”很好体现在同一动物模型上。此外,为使“疾病”与“证候”充分相互作用,应注意使两者的干预因素在模型动物上有一定的同时性与历时性,以确保模型的稳定。

3.3 模型评价

3.3.1 疾病评价 椎间盘退变动物模型的评价方法有很多,常用的有影像检查、分子生物学检测和组织

形态学观察等^[15]。其中组织形态学观察是公认的椎间盘退变模型评价金标准,退变的椎间盘主要表现为纤维环排列紊乱、纤维细胞减少、髓核脱水、软骨样细胞增加、髓核-纤维环分界不清、软骨终板不规则及边缘出现骨赘、钙化等^[16]。

3.3.2 证候评价 对动物模型进行证候评价主要根据中医“有诸内必形诸外”和“思外揣内”的思想,通过观察动物外在表现的变化确定证型。如当动物模型出现倦怠懒动、毛发无光泽、体重增加缓慢、大便溏薄等表现时,可认为气虚证模型构建成功。但由于动物和人之间的差异性,动物不能主诉症状,且舌、脉等重要体征难以在动物身上进行观察。赵慧辉等^[9]认为动物模型表现出的症状与体征,不具备或不能真正体现中医证候的属性。因此,动物模型的中医证候评价方法尚需进一步深入研究,加强对动物自身症候特征的挖掘,找出动物特异性的症候指征非常有必要,且必要时可应用方药反证法判定模型动物的证候属性。

4 小 结

以病证结合动物模型作为中医药研究的载体,使“疾病”与“证候”在模型上统一,不仅能体现中医“辨证论治”的基本思想,又符合西医学的疾病诊断与疗效评价体系,较符合临床实际。目前,关于构建适宜中医药研究的椎间盘退变动物模型的研究还处于起步阶段,疾病造模方法与中医证候造模方法的关联性、哪些干预因素适用于构建病证结合模型等问题还有待于进一步研究。而对模型的评价,如能在影像学、分子生物学和组织形态学等方面发现人与动物模型之间的共性,应用这些共性构建一种可在人与动物模型之间通用的、客观的、敏感性高的评价体系,将极大提高中医药治疗椎间盘退变性疾病实验动物研究的可靠性,推动椎间盘退变性疾病研究的深入开展。

5 参考文献

- [1] 施杞. 益气化瘀法防治椎间盘退变性疾病的应用与发展[J]. 上海中医药大学学报, 2008, 22(4): 1-5.
- [2] Driscoll TP, Nakasone RH, Szczesny SE, et al. Biaxial mechanics and inter-lamellar shearing of stem-cell seeded electrospun angle-ply laminates for annulus fibrosus tissue engineering [J]. Journal of Orthopaedic Research, 2013, 31(6): 864-870.
- [3] Fukui D, Kawakami M, Yoshida M, et al. Gait abnormality due to spinal instability after lumbar facetectomy in the rat. [J]. European Spine Journal, 2015, 24(9): 2085-2094.

- [4] Martin JT, Gorth DJ, Beattie EE, et al. Needle puncture injury causes acute and long-term mechanical deficiency in a mouse model of intervertebral disc degeneration[J]. J Orthop Res, 2013, 31(8): 1276-1282.
- [5] 吴彬, 张辉, 王海滨, 等. 椎间注射转化生长因子 $\beta 1$ 对兔退变腰椎间盘蛋白多糖表达的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(11): 1961-1964.
- [6] 郝晓东, 王善金, 蒋雷生, 等. 骨保护素基因敲除小鼠腰椎间盘退变与腰椎骨质疏松[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(24): 4402-4407.
- [7] Gruber HE, Phillips R, Ingram JA, et al. Spontaneous age-related cervical disc degeneration in the sand rat[J]. Clin Orthop Relat Res, 2014, 472(6): 1936-1942.
- [8] 殷惠军, 黄烨. 病证结合动物模型的研究进展[J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(1): 8-10.
- [9] 赵慧辉, 王伟. 病证结合证候模型研究基本思路[J]. 中华中医药杂志, 2006, 21(12): 762-764.
- [10] 江建春, 王拥军, 施杞, 等. 颈椎病中医证候模型研究思路初探[J]. 上海中医药杂志, 2007, 41(2): 5-8.
- [11] 李军兰, 方肇勤. 气虚证动物模型造模方法综述[J]. 上海中医药大学学报, 2004, 18(3): 56-60.
- [12] 陈奔, 钟振国. 血瘀证病证结合动物模型研究进展[J]. 世界中西医结合杂志, 2015, 10(1): 136-139.
- [13] 吕爱平. 病证结合动物模型研究: 从理论创新到技术挑战[J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(1): 6-7.
- [14] 刘志刚, 柴程芝, 黄煌, 等. 病证结合方证动物模型构建思路的探索[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(8): 2123-2125.
- [15] 钟锐, 刘少喻. 腰椎间盘突出动物模型评价方法的研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2014, 24(11): 1039-1043.
- [16] Luo Y, Zhang L, Wang WY, et al. Alendronate retards the progression of lumbar intervertebral disc degeneration in ovariectomized rats[J]. Bone, 2013, 55(2): 439-448.

(2016-07-26 收稿 2016-08-14 修回)

《中医正骨》杂志 2014 年重点专栏目录(四)

2014 年第 9 期——骨科康复与运动疗法专栏

- 1 运动疗法在骨科康复中的应用
(述评专家: 四川省骨科医院 张世明教授)
- 2 核心稳定肌训练联合郑氏手法推拿治疗中国女子曲棍球运动员腰痛的疗效观察
- 3 持续被动运动在全膝关节置换术后康复中的应用
- 4 综合康复治疗治疗上肢骨折术后肘关节功能障碍
- 5 运动疗法配合物理治疗治疗骨质疏松性椎体压缩性骨折
- 6 手法松解联合功能锻炼和中药熏洗治疗膝关节僵硬
- 7 运动干预防治膝骨关节炎的研究进展
- 8 功能锻炼治疗髌股疼痛综合征的研究进展

参考文献著录格式

- [1] 张世明. 运动疗法在骨科康复中的应用[J]. 中医正骨, 2014, 26(9): 3-5.
- [2] 黄雷. 核心稳定肌训练联合郑氏手法推拿治疗中国女子曲棍球运动员腰痛的疗效观察[J]. 中医正骨, 2014, 26(9): 15-18.
- [3] 赵斌, 曾宪辉, 丰新建, 等. 持续被动运动在全膝关节置换术后康复中的应用[J]. 中医正骨, 2014, 26(9): 19-20.
- [4] 赵卫侠, 刘波, 张鑫, 等. 综合康复治疗治疗上肢骨折术后肘关节功能障碍[J]. 中医正骨, 2014, 26(9): 36-38.
- [5] 张鑫, 刘波, 刘辉, 等. 运动疗法配合物理治疗骨质疏松性椎体压缩性骨折[J]. 中医正骨, 2014, 26(9): 43-45.
- [6] 梁学振, 王少山. 手法松解联合功能锻炼和中药熏洗治疗膝关节僵硬[J]. 中医正骨, 2014, 26(9): 53-54.
- [7] 高丕明, 罗小兵, 何栩, 等. 运动干预防治膝骨关节炎的

研究进展[J]. 中医正骨, 2014, 26(9): 70-74.

- [8] 赵军, 王庆甫, 马玉峰, 等. 功能锻炼治疗髌股疼痛综合征的研究进展[J]. 中医正骨, 2014, 26(9): 75-78.

2014 年第 10 期——脊柱退行性疾患专栏

- 1 腰椎融合与非融合在腰椎间盘突出症手术中的合理选择
(述评专家: 河南省洛阳正骨医院 周英杰教授)
- 2 腰椎 Modic 改变面积与腰痛程度的关系
- 3 单枚与双枚椎间融合器植骨融合联合椎弓根钉棒系统内固定治疗腰椎滑脱的对比研究
- 4 钛网椎管成形植骨融合内固定术治疗老年退行性腰椎椎管狭窄症
- 5 颈后路有限双开门椎管扩大纳米仿生骨棘突间植入术治疗多节段脊髓型颈椎病

参考文献著录格式

- [1] 周英杰. 腰椎融合与非融合在腰椎间盘突出症手术中的合理选择[J]. 中医正骨, 2014, 26(10): 3-6.
- [2] 张晓冬, 王国柱, 庄汝杰. 腰椎 Modic 改变面积与腰痛程度的关系[J]. 中医正骨, 2014, 26(10): 16-19.
- [3] 贺瑞, 尚希福, 张文志, 等. 单枚与双枚椎间融合器植骨融合联合椎弓根钉棒系统内固定治疗腰椎滑脱的对比研究[J]. 中医正骨, 2014, 26(10): 20-24.
- [4] 任伟剑, 项良碧, 于海龙, 等. 钛网椎管成形植骨融合内固定术治疗老年退行性腰椎椎管狭窄症[J]. 中医正骨, 2014, 26(10): 46-48.
- [5] 陈爽, 杨勇, 梅伟, 等. 颈后路有限双开门椎管扩大纳米仿生骨棘突间植入术治疗多节段脊髓型颈椎病[J]. 中医正骨, 2014, 26(10): 49-51.