综述

椎间盘退变动物模型的研究进展

Research progress of animal model for intervertebral disc degeneration

王海莹, 张 旭, 丁文元, 杨大龙, 申 勇

(河北医科大学第三医院脊柱外科 050051 河北省石家庄市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2015.03.15

中图分类号: R-332, R681.5 **文献标识码**: A **文章编号**: 1004-406X(2015)-03-0279-04

椎间盘退变性疾病(disc degenerative disease, DDD)是由多种因素诱发的临床常见病和多发病。虽然国内外相关研究较多, 但 DDD 的确切病因和发病机制尚不十分清楚。椎间盘退变动物模型对 DDD 的研究起到十分重要的作用。简单可靠的动物模型能够为研究 DDD 的发病原因及机制提供有利条件, 同时也为 DDD 治疗手段和药物筛选及评估提供实验载体[1]。近年来, 国内外报道的椎间盘退变动物模型的种类及方法繁多。笔者就近年来椎间盘退变动物模型的研究进展综述如下。

1 模型建立的要求及动物的选择

从 Lob 等(1933 年)损伤兔的椎间盘纤维环后观察到椎间盘退变现象至今, 椎间盘退变动物模型研究已有 80 余年历史, 许多学者选择不同的动物、采用不同的方法成功建立了椎间盘退变动物模型。动物模型的建立应满足以下几点要求: ①能再现椎间盘退变的客观规律; ②模型重复性好; ③所选动物的解剖和生理特征尽可能与人类相似; ④所选动物具备经济性和易操作性[2]。但很难找到能够完全满足上述要求的物种作为模型动物。到目前为止, 用于构建椎间盘退变动物模型的动物有 10 余种, 比较常见的包括鼠、羊、兔、犬、猪和猴等。灵长类动物与人类的亲缘关系最为密切, 其解剖和生理特点与人类最为接近, 如恒河猴是制作椎间盘退变模型最为理想的动物, 但由于动物伦理、来源有限及经济因素, 其应用受到一定限制。猪、羊等大型哺乳类动物也因条件限制难以大规模使用。目前, 鼠和兔是制作椎间盘退变模型最为常用的动物, 具有价格低廉、饲养方便等优点, 而且其椎间盘与人类椎间盘在解剖及生化结构上非常相近[3]。

2 模型建立的方法

2.1 诱发性椎间盘退变模型

2.1.1 力学模型

2.1.1.1 应力改变模型 Kelsey 等[4]通过流行病学研究发现, 异常应力可导致椎间盘结构的破坏, 认为椎间盘退变与应力有关。Lai 等[5]通过加压大鼠尾部, 建立了轴向加压动物模型, 他们发现, 当压力增大、压缩时间延长时, 髓核压力增高、纤维环张力加大; 镜下观察发现髓核及纤维环细胞发生了形态学变化, 形成了退变模型。一些学者使用不同压力模式研究大鼠尾部椎间盘的变化时发现[6,7], 应力改变导致了椎间盘基质成分的变化, 胶原酶和弹力蛋白也不同程度地发生了变化。椎间盘内蛋白多糖的分布和蛋白的表达与正常椎间盘也明显不同。马南等[8]采用羊构建动物模型, 利用椎体前方钢板加压模仿人椎间盘退变过程, 在不损伤椎间盘结构的同时增加椎间盘的压力, 诱导椎间盘的退变, 更加符合人椎间盘的退变机制, 造模 6 个月后发现髓核及纤维环发生了退变。王学文等[9]建立了压力可控型椎间盘退变模型, 成功模拟了人在不同姿势下椎间盘退变模型, 与人的椎间盘退变具有更高的相似性和可比性。

2.1.1.2 脊柱失稳模型 此类模型是破坏脊柱的静态平衡和动态平衡, 造成脊柱过度运动, 产生脊柱不稳[10]。研究表明[2], 大鼠椎间盘过量及反复运动会触发椎间盘退变, 包括纤维环破裂、椎间盘细胞凋亡等。Bailey 等[11]通过切除大鼠双上肢造成双足鼠模型, 反复的站立姿势增加了大鼠下腰部负重, 造成脊柱过量运动, 成功制作了脊柱失稳模型。Wang 等[12]通过破坏大鼠颈后部肌肉及韧带, 造成颈部不稳, 通过光镜及电镜观察到了椎间盘炎性反应及细胞凋亡等退变表现。张昭等[13]通过分离兔的棘突、椎板及小关节突的肌肉, 然后切除椎体两侧下关节突, 造成脊柱不稳, 制作了椎间盘退变模型。由脊柱失稳制作椎间盘退变模型, 一方面诱发椎间盘退变时间较长, 不易控制; 另一方面还存在术后周围组织的纤维化可能会使失稳的脊柱重新稳定, 存在不可靠因素, 其可重复性也较差。

2.1.2 损伤模型

2.1.2.1 机械损伤模型 机械损伤模型主要包括纤维环损伤模型、终板损伤模型和髓核损伤模型。早在 1948 年, Key 等[14]用手术刀损伤狗的纤维环成功构建了椎间盘退变模型。桂柯科等[15]通过开放手术, 采用 16 号穿刺针直视下穿刺纤维环, 术后髓核信号强度呈现逐渐降低趋势, 髓核

第一作者简介: 男(1988-), 医学硕士, 研究方向: 脊柱外科
电话: (0311)88602317 E-mail: weishenme68@126.com
通讯作者: 丁文元 E-mail: dingwenyuanls@Sina.com

面积逐渐缩小,椎间隙高度也逐步下降,成功制作了兔椎间盘退变模型。然而,此类手术对动物损伤大,操作繁琐。近年来,国内外学者[16,17]在透视引导下,通过针刺大鼠及兔的纤维环,术后一段时间后,发现椎间高度丢失,组织学及免疫化学显示椎间盘发生了退变,此种方法操作简单、创伤小,成功率高。贺庆等[18]通过对比经皮纤维环穿刺与经肌间隙纤维环刀刺建立兔椎间盘退变模型,证实了两种方法的可行性,但经皮纤维环穿刺法椎间盘退变与人类椎间盘退变更为接近,并且创伤小,操作简单,具有一定的优越性。软骨终板损伤也会引起椎间盘的退变。研究发现,猪的急性终板损伤会导致髓核压力下降和椎间盘压力的重新分布,引起髓核及纤维环的破坏,造成椎间盘退变[19]。Holm 等[20]应用该方法建立了猪椎间盘退变模型。但发现终板的破坏程度不易掌握,损伤后可出现局部出血及周围肉芽组织形成等而影响造模。目前该方法应用较少。周松等[21]通过抽吸兔髓核组织 4~20 周后,发现实验组椎间盘 T2 加权像信号明显降低,椎间高度下降及蛋白多糖含量减少,病理及影像表现与人的椎间盘退变十分相似。赵鑫等[22]通过对比纤维环穿刺法和髓核抽吸法建立的兔椎间盘退变模型,发现术后 8 周,髓核抽吸组的Ⅱ型胶原和蛋白多糖含量明显低于纤维环穿刺组,证实两种方法均可建立退变模型,但髓核抽吸组的退变程度大于纤维环穿刺组。

2.1.2.2 化学损伤模型 向动物椎间盘内注射酶类等化学物质使髓核细胞死亡、蛋白多糖急剧降低,可能是一种模仿椎间盘退变的有效方法。Lotz [23] 向鼠的髓核内注入 1mg 木瓜凝乳蛋白酶,发现 3 周后椎间隙变窄,T2 加权像信号强度下降,提示椎间盘发生了退变。Roberts 等[24]将牛尾的椎间盘置于不同浓度蛋白水解酶-胰岛素-木瓜蛋白酶混合物培养基中,3 周后发现与对照组相比,处理组椎间盘中央异染区丢失、糖胺聚糖含量下降,认为该模型对治疗椎间盘退变生物学方法的研究有一定意义。Hoogendoorn 等[25]通过向羊椎间盘内注射软骨素酶 ABC,成功建立了温和、缓慢与人相似性较强的椎间盘退变模型,并认为此种方法值得进一步研究。近来,Wei 等[26]采用与人类亲缘关系最近的恒河猴作为模型动物,通过向邻近椎间盘的软骨下骨注入博来霉素,连续观察 15 个月,采用影像学、组织化学及分子生物学等方法观察椎间盘退变情况,结果显示椎间盘发生了与人类相似的退变情况。

2.1.3 生物学模型

2.1.3.1 基因敲除模型 近年来,人们对基因的认识逐渐深入,基因工程已成为生命科学领域的研究热点。基因可能在 DDD 的过程中发挥着重要的作用,基因敲除技术是在基因整合技术及干细胞体外培养技术基础上建立起来的新型生物技术,是指针对某个序列已知但功能未知的序列,通过改变生物遗传基因,令特定的基因功能丧失作用,从而使部分功能被屏障,进而推测出该基因的生物学功能。Sahlman 等[27]研究 Col2al 基因(编码Ⅱ型胶原)在小鼠椎间盘退变中的作用,结果显示基因敲除组小鼠的终板不规则增厚,纤维环、终板和椎骨内糖胺聚糖含量较正常小鼠减少,出现了与人类相似的椎间盘退行性改变。研究表明[28,29],敲除 GDF8 基因及Ⅸ型胶原基因后小鼠的腰椎间盘出现了类似退变的表现,表现为软骨终板细胞增殖,软骨破坏等。目前由于基因敲除对实验者的要求较高,同时需要先进的设备和较高的技术,实验过程复杂及费用较高,所以应用不多,文献报道较少。

2.1.3.2 缺血模型 椎间盘内无血管分布,椎间盘的营养供应和新陈代谢主要依靠软骨终板的弥散作用。Shirazi-Adl 等[30]研究认为,阻断软骨终板的渗透作用,造成椎间盘血供减少,影响营养物质的扩散及分布,最终能够导致细胞死亡和椎间盘的退变。Hutton 等[31]通过向狗单侧或双侧终板处注入骨水泥以诱导血供障碍,但连续观察 70 周后,并未发现椎间盘退变表现,也未记录到营养物质运输的抑制量,但却发现了椎间盘轻微的组织学变化,最终未能制作出犬椎间盘退变模型。近期,Kang 等[32]采用幼猪作为模型动物,向软骨终板处注入骨水泥,结果 3 个月后成功制作了椎间盘退变模型,这一发现也提示幼年动物椎间盘营养障碍可以导致椎间盘的退变。究其原因可能是幼年椎间盘正处在生长阶段,需要更多的营养物质。虽然椎间盘缺血性干预的长期作用还有待进一步观察,但它提示了缺血导致的营养障碍在椎间盘退变中起重要作用。

2.1.4 其他模型 Oda 等[33]通过将大鼠置于被动吸烟装置中,制作了吸烟模型,8 周后检测到大鼠血液中尼古丁含量上升,并观察到椎间盘细胞炎症因子分泌增加,细胞分解活动增强,提示吸烟导致了椎间盘的退变。Nasto 等[34]的研究结果也提示吸烟与椎间盘退变有关。王娜等[35]通过向兔椎间盘内注入 N 端 30kDa 纤连蛋白片段,8 周后成功诱导出椎间盘退变模型。

2.2 自发性椎间盘退变模型

Silberberg 等[36]首先发现了与人椎间盘退行性变化相似的沙鼠椎间盘的变化。研究认为,沙鼠高盐少水的饮食在某种程度上引起了代谢的变化,进而引起椎间盘的退变。沙鼠椎间盘的退变具有出现早、发生率高等特点。后续学者的研究发现[37,38],这种自发性椎间盘退变模型与年龄有一定的关系,Song 等[38]的研究发现 Hartley 豚鼠在 3 月龄时就会出现椎间盘的退变。此类模型在一定程度上减少了人为因素的影响,但由于发病原因及致病机理还不清楚而限制了应用。

3 小结

建立椎间盘退变模型的目的在于能够模拟人椎间盘退变后在组织、细胞甚至分子水平等方面的变化,为研究人类椎间盘退变的发生机制及预防治疗策略提供载体。目前关于构建椎间盘退变模型有多种方法,但人椎间盘退变的影响因素较多,各因素之间交互作用,尚未有一种模型能全面模拟出人椎间盘的退变。目前模型的局限性主要是:(1)造模的时间过长、方法复杂;(2)对动物创伤大,造

模难度高;(3)使用稀有实验动物,限制较多;(4)造模机制和人类的椎间盘退变机制不符。随着研究的进一步发展,建立与人类椎间盘退变相似性及可比性高的动物模型是应用于防治椎间盘退变的关键,许多学者尝试通过基因技术改变遗传性状的方法可能为动物模型的研究开辟更为广阔的前景,但这类模型报道较少,还有待进一步研究,构建理想的椎间盘退变模型仍将任重而道远。

4 参考文献

1. Masuda K. Biological repair of the degenerated intervertebral disc by the injection of growth factors[J]. Eur Spine J, 2008, 17(Suppl 4): 441–451.
2. Singh K, Masuda K, An HS. Animal models for human disc degeneration[J]. Spine J, 2005, 5(6 Supp1): 267–279.
3. Rufai A, Ralphs JR, Benjamin M. The development of fibrocartilage in the rat intervertebral disc[J]. Anat Embryol, 1995, 192(1): 53–62.
4. Kelsey JL, Githens PB, O'Conner T, et al. Acute prolapsed lumbar intervertebral disc: an epidemiologic study with special reference to driving automobiles and cigarette smoking [J]. Spine, 1984, 9(6): 608–613.
5. Lai A, Chow DH, Siu SW, et al. Effects of static compression with different loading magnitudes and durations on the intervertebral disc: an in vivo rat–tail study[J]. Spine, 2008, 33 (25): 272l–2727.
6. Barbir A, Michalek AJ, Abbott R, et al. Effects of enzymatic digestion on compressive properties of rat intervertebral discs [J]. J Biomech, 2010, 43(6): 1067–1073.
7. Karin W, Karolyn G, Jeffrey J, et al. In vivo remodeling of intervetrebral discs in response to short –and long –term Dynamic compression[J]. J Otrhop Res, 2009, 27(9): 1235–1242.
8. 马南, 朱建民, 朱海波, 等. 椎体前路钢板加压诱导羊椎间盘退变的实验研究[J]. 临床骨科杂志, 2011, 14(4): 443–445.
9. 王学文, 钟伟, 田云虎, 等. 压力可控型椎间盘退变模型的建立及相关研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2010, 18(20): 1727–1730.
10. Pillips FM, Reuben J, Wetzel FT. Intervertebral disc degeneration adjacent to a lumbar fusion:an experimental rabbit model[J]. J Bone Joint Surg Br, 2002, 27(12): 1291–1296.
11. Bailey AS, Adler F, Min LS, et al. A comparison between bipedal and quadripedal rats: do bipedal rats actually assume an upirght posture [J]. Stud Health Technol Inform, 2002, 88: 15–16.
12. Wang VJ, 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, 2006, 31(14): 1532–1538.
13. 张昭, 霍洪军, 杨学军, 等. 兔椎间失稳软骨终板退变的实验研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2008, 16(21): 1650–1652.
14. Key JA, Ford LT. Experimental intervertebral disc lesions[J]. J Bone Joint Surg Am, 1948, 30(3): 621–629.
15. 桂柯科, 尹望平, 张 飚, 等. 纤维环穿刺法建立兔椎间盘退变模型[J]. 中国矫形外科杂志, 2010, 18(21): 1814–1816.
16. Issy AC, Castania V, Castania M, et al. Experimental model of intervertebral disc degeneration by needle puncture in Wistar rats[J]. Braz J Med Biol Res, 2013, 46(3): 235–244.
17. 崔运能, 李绍林, 周荣平, 等. CT 引导下经皮纤维环穿刺建立兔腰椎间盘退变模型[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2014, 24(3): 234–243.
18. 贺庆, 李兵, 卓祥龙, 等. 经皮纤维环穿刺与经肌间隙纤维环刀刺建立兔椎间盘退变模型[J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(13): 2059–2064.
19. Cinotti G, Della Rocca C, Romeo S, et al. Degenerative changes of porcine intervertebral disc induced by vertebral endplate injuries[J]. Spine, 2005, 30(2): 174–180.
20. Holm S, Holm AK, Ekstom L, et al. Experimental disc degeneration due to endplate injury[J]. J Spinal Disord Tech, 2004, 17(1): 64–71.
21. 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.
22. 赵鑫, 赵新刚, 张海龙, 等. 纤维环穿刺法与髓核抽吸法建立兔椎间盘退变模型的比较[J]. 解剖学杂志, 2008, 31(3): 394–396.
23. Lotz JC. Animal models of intervertebral disc degeneration: lessons learned[J]. Spine, 2004, 29(23): 2742–2750.
24. Roberts S, Menage J, Sivan S, et al. Bovine explant model of degeneration of the intervertebral disc [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2008, 9: 24.
25. Hoogendoorn RJ, Wuisman PI, SmitTH, et al. Expeirmental intervertebral disc degeneration induced by chondroitinase ABC in the goat[J]. Spine, 2008, 33(9): 949–954.
26. Wei F, Zhong R, Zhou Z, et al. In vivo experimental intervertebral disc degeneration induced by bleomycin in the rhesus monkey [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2014, 15: 340.
27. Sahlman H, Inkinen R, Hirvonen T, et al. Premature vertebral endplate ossification and mid disc degeneration in mice after inactivation of one allele belonging to the Col2al gene for Type Ⅱ collegen[J]. Spine, 200l, 26(23): 2558–2565.
28. Hamrick MW, Pennington C, Byron CD, et al. Bone architecture and disc degeneration in the lumbar spine of mice lacking GDF–8(myostatin)[J]. J Oratories, 2003, 21(6): 1025–1032.
29. Bvod LM, Richardson WJ, Allen KD, et al. Eardy–onest degeneration of the intervertebral disc and vertebral end plate in mice deficient in type IX collagen [J]. Arthritis rheumatism, 2008, 58(1): 164–171.
30. Shirazi–Adl A, Taheri M, Urban JP. Anlaysis of cell viability in intervertebral disc: effect of endplate permeability on

综述

腰椎后路微创动态内固定技术的研究进展

Research progress of minimally invasive posterior lumbar dynamic stabilization technology

王 锟, 王文军

(南华大学附属第一医院脊柱外科 421001 湖南省衡阳市)

doi:10.3969/j.issn.1004-406X.2015.03.16

中图分类号:R687.3 **文献标识码**:A **文章编号**:1004-406X(2015)-03-0282-05

近年来, 腰椎后路动态内固定技术的研发及应用发展迅速,其种类繁多,主要包括动态内固定器械的设计及新材料的应用,但绝大多数需行开放手术。与传统开放减压植骨融合固定术比较, 微创减压附加非融合固定的 Hybrid 手术日益得到重视。笔者针对几种可经皮微创置入的腰椎后路动态内固定技术综述如下。

1 微创动态内固定装置

1.1 微创棘突间撑开装置

通过在棘突间置入撑开装置, 在棘突间持续加载一定程度的撑开力,基本保留了椎间的生理活动,扩大了椎管及椎间孔容积,但对相邻节段的活动和负荷传递并没有明显影响[1]。其次,棘突间撑开装置能够限制病变节段脊柱过度后伸运动,以消除症状,同时保持脊柱的正常活动,从而达到动态的稳定。另外,棘突间撑开装置还可以恢复因退变而导致的椎间高度丢失,同时减轻退变脊柱承受的载荷,最终减缓脊柱的退变进程。

1.1.1 Superion 该器械是由 Ti-6AI-4V ELI 合金制成的自膨胀式微创棘突间撑开装置,根据所需撑开棘突间隙的大小, 有 5 种 (8、10、12、14、16mm) 可供选择的型号。Superion 由主体和上下臂构成(图 1a、1b),上下臂设计为"U"型鞍状结构,可将棘突卡入槽中且可随脊柱运动旋转,主体管道可与驱动器连接,使两臂由非展开状态于棘突间撑开[2]。术中沿背部中线作 11~35mm(24±11mm)长纵切口,撑开器插入切口,暴露并切开棘上韧带,确保棘突间有足够的操作空间, 将插管通过撑开器到达合适的深度,通过套管将置入物置入椎间隙,予驱动器撑开上下臂[3]。Patel 等[4]通过比较 Superion 与 X-stop[5]治疗中度腰椎管狭窄症的 2 年随机对照试验发现, 两组苏黎世跛行问卷(Zurich Claudication questionnaire,ZCQ) 身体机能指数均提高了 34%~36%, 患者满意度分别为 1.8±0.9 分和 1.6±0.8 分, Superion 组轴向疼痛从 59±26mm 降低到 21±26mm,X-stop 组轴向疼痛从 55±26mm 降低到 21±25mm(P<0.001),

第一作者简介:男(1989-),医师,医学硕士,研究方向:脊柱外科
电话:(0734)8578621 E-mail:drwk@qq.com

cell population[J]. J Biomech, 2010, 43(7): 1330-1336.

31. 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.
32. Kang R, Li H, Ringgaard S, et al. Interference in the end-plate nutritional pathway causes inter vertebral disc degeneration in an immature porcine model [J]. Int Orthop, 2014, 38(5): 1011-1017.
33. 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.
34. Nasto LA, Ngo K, Leme AS, et al. Investigating the role of DNA damage in tobacco smoking-induced spine degeneration [J]. Spine J, 2014, 14(3): 416-423.
35. 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
36. Silberberg R, Aufdermaur M, Adler JH. Degeneration of the intervertebral disks and spondylosis in aging sand rats [J]. Arch Pathol Lab Med, 1979, 103(5): 231-235.
37. Laing AC, Cox R, Tetzlaff W, et al. Effects of advanced age on the morphometry and degenerative state of the cervical spine in a rat model[J]. Anat Rec, 2011, 294(8): 1326-1336.
38. Song QH, Zhu J, Liu F, et al. The experiment research on Morphologic changes of nucleus pluposus and blood biochemical in aging and degenerative Hartley Guinea Pig disc lumbar intervertebral Disc[J]. J Med Res, 2009, 38(2): 48-52.

(收稿日期:2014-12-28 末次修回日期:2015-03-07)

(本文编辑 李伟霞)