

腰椎间盘退变动物模型的研究进展

Research progress on animal models of lumbar disc degeneration

杜瑞环, 张 警, 李忠海

(大连医科大学附属第一医院骨科 116600 大连市)

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2023.09.12

中图分类号: R681.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2023)-09-0847-07

腰椎间盘突出症是骨科常见疾病,指纤维环破裂后,髓核、纤维环及韧带向腰椎管突出,刺激或压迫神经根,引起患者腰、腿疼痛,病情反复,导致患者活动受限甚至残疾,严重影响患者生活质量。而椎间盘退变(intervertebral disc degeneration,IDD)是腰椎间盘突出症的主要原因,相比于腰椎间盘突出症,腰椎 IDD 更为常见。有大型队列研究显示腰椎 IDD 发生率男性为 31.6%,女性高达 44.7%^[1]。建立 IDD 动物模型对人类腰椎 IDD 的相关研究尤为重要,然而 IDD 的机制尚不清晰,并且 IDD 的动物模型繁多,尚无公认的统一且理想的 IDD 动物模型。根据人类 IDD 的特点,改变动物腰椎髓核和纤维环理化性质,甚至破坏椎间盘正常结构,诱导动物的椎间盘发生退变。不同的动物模型造模方法各有优劣,模拟人类腰椎 IDD 的影响因素存在差别,出于不同的研究目的,可以选择适应相关

研究的动物模型。笔者对腰椎 IDD 动物模型的建立方法进行综述,为腰椎 IDD 的相关研究建立动物模型提供依据。

1 IDD 动物模型的物种选择及分类

鼠、兔、羊、猪、狗、猴及狒狒等多种动物被用于建立 IDD 模型^[2]。其中,猴、狒狒等灵长类动物双足直立行走,其腰椎间盘与人类的腰椎间盘在解剖生理上较为接近,最适合作为腰椎 IDD 的动物模型^[3],但其价格昂贵,并受伦理道德的约束,很少使用。与灵长类动物相比,羊、猪、狗等体型较大的动物易于获取,其腰椎间盘大小与人类的接近^[4,5],但其为四足动物,腰椎间盘受到的生物力学压力较小,与人类的腰椎间盘生物力学存在很大差别,而且,其体型较大,对饲养环境有一定的要求,因此应用较少;鼠、兔等体型小、易于饲养、来源充足且经济成本低,应用最为广泛,但其椎间盘的生理解剖结构与人类存在一定差别。

目前,IDD 模型按建立的方法分类主要包括诱发性 IDD 模型、自发退变模型和基因改造模型(图 1)。诱发性 IDD 模型是指利用器械或化学试剂人为破坏纤维环、髓核、终板等椎间盘结构,从而造成 IDD;或者通过改变实验动物的姿势、外部加压或破坏椎间盘之外的脊柱结构从而改变椎间盘的生物力学机制,诱导椎间盘发生退变,例如:尾部压缩模型、双足直立动物模型、腰椎不稳模型等。自发退变模型是指实验动物因年龄增长而发生 IDD。随着基因

基金项目: 辽宁省自然科学基金面上项目(2022-MS-322);大连市科技创新基金应用基础项目(2022JJ12SN045);大连理工大学辽宁省微纳米技术及系统重点实验室开放课题基金资助项目(20210101)

第一作者简介: 男(1997-),硕士研究生在读,研究方向:脊柱退行性疾病发病机制与再生修复

电话: (0411)83635963 E-mail: drh1601446074@126.com

通讯作者: 李忠海 E-mail: lizhonghaispine@126.com

108.

36. Lvov I, Grin A, Godkov I, et al. Posterior percutaneous transarticular stand-alone screw instrumentation of C1-C2 with endoscopic assistance: a report of two cases[J]. Neurocirugia(Astur: Engl Ed), 2021, 32(2): 78-83.
37. Taller S, Suchomel P, Lukás R, et al. CT-guided internal fixation of a hangman's fracture[J]. Eur Spine J, 2000, 9(5): 393-397.
38. Sugimoto Y, Ito Y, Shimokawa T, et al. Percutaneous screw fixation for traumatic spondylolisthesis of the axis using iso-C3D fluoroscopy-assisted navigation (case report)[J]. Minim

Invasive Neurosurg, 2010, 53(2): 83-85.

39. Buchholz AL, Morgan SL, Robinson LC, et al. Minimally invasive percutaneous screw fixation of traumatic spondylolisthesis of the axis [J]. J Neurosurg Spine, 2015, 22(5): 459-465.
40. Kantelhardt SR, Keric N, Conrad J, et al. Minimally invasive instrumentation of uncomplicated cervical fractures [J]. Eur Spine J, 2016, 25(1): 127-133

(收稿日期: 2022-07-14 末次修回日期: 2022-10-23)

(本文编辑 姜雅浩)

工程技术的发展,通过敲除关键基因,构建出更容易自发产生 IDD 的动物称为基因改造动物。但其技术要求高、操作复杂,所以该领域研究相对较少。

2 诱发性 IDD 模型

2.1 纤维环损伤模型

纤维环损伤包括两种方法,即纤维环手术切开法和纤维环穿刺法。纤维环手术切开法,造成 IDD 的效果显著,但对纤维环破坏面积大,极易引起髓核脱出,且操作复杂,而纤维环穿刺法创伤小,成功率高,且随着研究进展,在透视引导下经皮穿刺纤维环已成为目前常用的模型之一。此外,不同纤维环穿刺的手术入路各有优劣,经腹膜外穿刺更为直观,穿刺位置准确,但该方法创伤大,给经腹二次手术造成困难,经皮后外侧穿刺则是一种不错的选择。Ashinsky 等^[9]的研究显示针刺兔腰椎纤维环 12 周后,椎间盘结构和生物力学发生显著变化,组织学分析显示椎间盘显著纤维化重塑和骨赘形成,椎间盘高度显著降低,各种指标都表明针刺椎间盘可以建立 IDD 模型。Piazza 等^[7]也证实了针刺小鼠尾椎椎间盘可建立 IDD 模型。Lei 等^[8]认为经腹入路穿刺纤维环具有较好的可视化效果,且穿刺位置准确、退变程度一致,穿刺后 4 周,组织学分析显示髓核中脊索细胞丢失,纤维软骨充满髓核空间,纤维环解体,并且随着时间推移,椎间盘高度不断降低,在影像学和组织学上与人类 IDD 一致。Moss 等^[9]也介绍了一种经腹入路穿刺纤维环从而建立兔腰椎 IDD 模型的方法。然而,Wang 等^[10]认为经腹入路手术的造模方式对实验动物创伤大,造成不必要的损伤,也不利于经前路二次手术,因此他们研发了一种经皮后外侧穿刺兔腰椎间盘建立的腰椎 IDD 模型,通过 MRI 和组织学分析确定了手术 12 周后可以成功建立兔腰椎 IDD 模型。Huang 等^[11]研究发现在 X 线透视引导下穿刺大鼠 L4/5 和 L5/6 椎间盘 6 个月后可以导致腰椎间盘胶原纤维增多、髓核减少、纤维环增厚和形状扭曲,各种行为实验也提示 IDD。Luo 等^[12]描述了一种透视引导下兔椎间盘穿刺的微创方法,术后 4 周成功建立 IDD 模型。

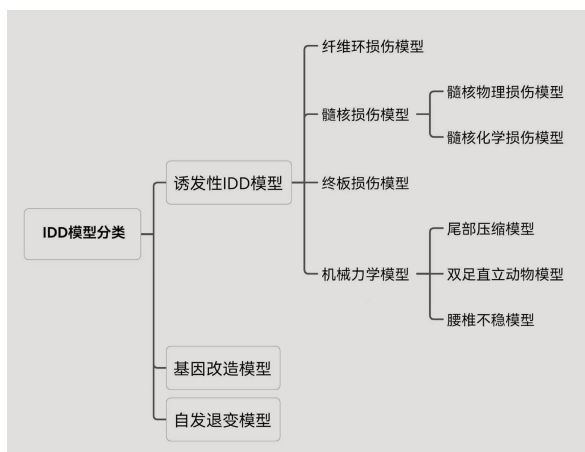


图 1 IDD 动物模型分类

通过纤维环穿刺建立 IDD 模型时,针头型号、穿刺深度和次数对造模效果和造模周期有重要影响。不同的实验动物选取的穿刺针型号也不同。以大鼠为造模对象时,穿刺针常用 18 号针头。相比于单次纤维环穿刺,采用小型号针头多次穿刺的造模效果更佳。Baldia 等^[13]发明了一种新的针刺损伤的工具,使用显微镜搭配注射器,精确控制针刺深度,术后 6 周内椎间盘高度显著降低,IDD 程度持续加重。此外,关于穿刺针头型号的选择,有学者对比了 16、18 和 26 号针头穿刺大鼠椎间盘的效果,发现椎间盘经 16 号针穿刺后,术后 1 周急剧退化;26 号针穿刺对椎间盘无明显损伤;而 18 号针头穿刺会导致椎间盘进行性退变,从而得出 18 号针是穿刺椎间盘建立大鼠 IDD 模型的最佳选择的结论^[14]。然而穿刺针头的选择与实验动物体型也有关系。早期的研究显示 16 号针头穿刺新西兰兔的椎间盘,穿刺深度为 5mm,24 周后影像学和组织学均显示成功建立 IDD 模型^[15]。Xi 等^[16]对比了 15 号和 20 号针头穿刺恒河猴椎间盘建立 IDD 模型的效果,结果显示 20 号针头穿刺恒河猴椎间盘诱导缓慢进行性、轻度椎间盘退变的效果更佳。Tian 等^[17]指出以小鼠为研究对象,26 号针头穿刺尾椎椎间盘,4 周后成功建立 IDD 模型。关于环形穿刺和单次穿刺的效果,Kim 等^[18]对比了细针多点穿刺(21 号针穿刺 3 个点)与粗针单点穿刺(18 号针穿刺 1 个点)的效果,结果显示两种穿刺方法均可导致 IDD,但是细针多点穿刺法可产生更明显的 IDD 征象。此外,Tian 等^[19]的随机对照实验以大鼠为研究对象,他们发现与单一卵巢切除或针刺损伤椎间盘相比,卵巢切除术和针刺损伤椎间盘联合手术诱导大鼠尾部 IDD 更有效,且 IDD 程度随着时间加重。纤维环穿刺损伤模型是一种快速、稳定且易操作的动物模型,而这种动物模型是通过人为损伤椎间盘而建立,与人类 IDD 过程相比,可能涉及不同的病理生理学,因此在人类腰椎 IDD 的发病机制和病理生理学的研究方面,这种模型被认为不如自发的 IDD 模型。

2.2 髓核损伤模型

髓核基质改变,细胞减少是 IDD 的主要特征,因此,通过注射化学试剂或器械损伤髓核细胞,可诱导或加速腰椎 IDD 形成。根据髓核损伤模型的构建原理,分为化学损伤模型和物理损伤模型。此外,向髓核注射痤疮丙酸杆菌也可诱导椎间盘发生退行性变化,然而其机制尚不清晰。

2.2.1 髓核化学损伤模型 化学损伤是指向椎间盘注射化学试剂从而对髓核造成损伤,例如碘乙酸和软骨素酶等(表 1)。Suh 等^[20]证实了向大鼠腰椎间盘注射碘乙酸钠会导致椎间盘宽度和髓核面积减小,且大鼠重量负荷转移到前脚掌、后仰减少,表现出类似 IDD 引起的腰痛,因此向椎间盘注射碘乙酸钠或成为一种新的更有潜力的腰椎 IDD 动物造模方法。Sudo 等^[21]也提出向腰椎间盘注射碘乙酸钠可以建立兔 IDD 模型,他们分别于注射后 2、4、8、12 周通过 MRI 检查和组织学分析椎间盘高度等指标,发现 IDD 呈现出时间和剂量依赖性变化。Yuan 等^[22]向大鼠尾骨

椎间盘注射 30 μ L 无水乙醇,诱导终板损伤,阻断椎间盘的营养供应,4 个月后椎间盘高度显著降低,终板发生骨硬化,组织学与生化指标均表明椎间盘呈退行性变化。Zhang 等^[23]向山羊椎间盘注射软骨素酶,12 周后椎间盘炎症反应增加,IDD 程度随着注射剂量增加而加重。Gullbrand 等^[24]也探究了不同剂量的软骨素酶诱导 IDD 的程度,指出分别注射 0.1U、1U 或 5U 软骨素酶可建立轻、中、重度 IDD 模型。注射化学试剂的剂量可以改变 IDD 的程度,造模应严格控制试剂剂量。然而,当向椎间盘注射的液体体积超过阈值时,也会诱导椎间盘发生退行性变化。Mao 等^[25]发现当注射到大鼠尾骨椎间盘的磷酸盐缓冲盐水达到 2.5 μ L 时,放射学、生化和组织学分析发现椎间盘表现出退行性变化,并且退变程度随着剂量的增加而加重。此外,化学试剂注射到椎间盘空间时,注射过程本身会对椎间盘造成针刺损伤,因此应当选择型号较小针头。

随着研究进展,在大部分人类 IDD 患者椎间盘中发现痤疮丙酸杆菌,因此,根据这一特点,向动物椎间盘接种痤疮丙酸杆菌从而诱导 IDD,然而这种模型的构建机制尚不清晰,有待进一步完善。Lin 等^[26]的研究显示,用带有 28 号针头的微注射器将痤疮丙酸杆菌接种到大鼠尾骨的髓核中,术后 72h 发现髓核细胞凋亡显著增加。Zamora 等^[27]证明了痤疮丙酸杆菌可以诱导大鼠尾骨 IDD,与对照组相比,接种痤疮丙酸杆菌 12 周后,椎间盘体积显著减少,退化明显。Shan 等^[28]提出痤疮丙酸杆菌诱导 IDD,在术后 2 周至 9 个月内多个时间点进行检查分析,发现椎间盘发生退变并且终板区出现炎症反应,且随时间推移而加重。

2.2.2 髓核物理损伤模型 髓核物理损伤模型主要是指通过髓核摘除、纤维环穿刺并抽吸髓核以及通过冰冻损伤髓核的方法建立 IDD 模型。Shi 等^[29]使用针刺小鼠椎间盘,并在显微镜下使用微型手术刀去除髓核,术后 12 周内,小

鼠的椎间盘进行性退变,椎间盘高度降低、髓核减少、蛋白多糖耗竭,成功建立了小鼠 IDD 模型。Wang 等^[30]的研究显示腰椎间盘针刺损伤、腰椎间盘穿刺并抽吸髓核两种方法均可建立 IDD 模型,但是与椎间盘穿刺损伤相比,腰椎间盘穿刺并抽吸髓核造模效果更佳。Kim 等^[31]对比了 4 种动物模型,以 L1/2 腰椎间盘作为对照,分别在兔不同节段腰椎间盘采取以下四种手术方式:L2/3 处使用 23 号针头在椎间盘内注射喜树碱,在 L3/4 处使用 21 号针头进行穿刺并抽吸髓核,在 L4/5 处使用 21 号针头进行 3 次穿刺,在 L5/6 处使用 18 号针头进行 1 次穿刺,结果显示与对照相比,穿刺并抽吸模型的硫酸糖胺聚糖含量显著降低,诱导腰椎 IDD 效果最佳。Flouzat-Lachaniette 等^[32]则通过终板穿孔进行髓核冷冻损伤来诱导 IDD,他们以猪为研究对象,与椎间盘穿刺或仅终板穿孔而未冷冻损伤的方法相比,经终板穿孔髓核冷冻损伤后椎间盘高度显著更低,椎间盘脱水率也显著更高,IDD 也更严重。

2.3 终板损伤模型

椎间盘主要通过终板提供营养物质,因此通过损伤终板,减少椎间盘营养供应也可以诱导 IDD。Su 等^[33]报告了一种通过椎体炎症来诱导 IDD 的动物模型,他们通过随机对照实验发现,大鼠椎体中部钻孔填充脂多糖可以诱导终板退变,椎间盘高度显著降低,髓核基质改变,纤维环结构杂乱无章。Wei 等^[37]提出一种终板损伤动物模型,通过减少椎间盘的营养供应,从而诱导椎间盘退变,利用骨髓针向兔椎间盘附近的软骨下骨中注射平阳霉素,术后 3 个月时髓核基质金属蛋白酶 3 等指标都显著增加,提示 IDD,术后 6 个月时椎间盘间隙显著变窄。此外,Wei 等^[38]使用同样的方法,利用博来霉素建立了恒河猴腰椎 IDD 模型。Jin 等^[39]提出一种缺血诱导 IDD 的模型,通过手术结扎兔腰椎节段动脉从而诱导终板缺血变性,间接减少椎间盘的营养物质供应,术后 2 周,影像学检查证实腰椎 IDD 模型构建成功,组织学分析和生化分析也显示椎间盘结构受损。

2.4 机械力学模型

2.4.1 尾部压缩模型 人类的 IDD 与椎间盘长期承受较大压力有关,因此根据这一特点,使鼠尾骨椎间盘持续承受较强的压力,从而诱导尾骨发生 IDD,这种方法操作简单,可重复性好。但是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。Yurube 等^[40]证实了带有弹簧的 Ilizarov 装置对大鼠尾巴施加轴向力,静态压缩尾骨椎间盘,可以诱发大鼠尾骨 IDD。Liu 等^[41]对小鼠尾部进行 2mm 宽的环切后,用端端吻合的方法压缩缝合缺损处,从而增加尾骨椎间盘的压力,术后 1、2、4 周进行放射学检查和组织学分析,发现椎间盘的含水量在加压 2 周后显著下降,髓核体积减小,脊索细胞数量减少。Ji 等^[42]设计了一种尾部模型,通过静态弯曲尾骨 8~10 椎骨,施加不同的外力压缩,14d 后发现静态弯曲联合外力压缩可以诱导 IDD,并且 IDD 程度与压缩负荷大小成正相关。这种模型强调了机械负荷对 IDD 的影响,实验

表 1 既往关于向椎间盘注射化学药物诱导 IDD 的研究

	年份	动物	药物,剂量	造模时长
Suh 等 ^[20]	2022 年	大鼠	碘乙酸钠 0.4mg/4mg	6 周
Sudo 等 ^[21]	2021 年	兔	碘乙酸钠 0.1mg/1mg	12 周
Borem 等 ^[29]	2021 年	绵羊	软骨素酶 1U	17 周
Zhang 等 ^[23]	2020 年	山羊	软骨素酶 0.1/1/5U	12 周
Gullbrand 等 ^[24]	2017 年	山羊	软骨素酶 0.1/1/5U	12 周
Zamora 等 ^[27]	2017 年	山羊	痤疮丙酸杆菌 5 μ L (1 $\times$ 10 ⁷ CFU/ μ L)	12 周
Shan 等 ^[28]	2017 年	兔	痤疮丙酸杆菌 100 μ L (1.6 $\times$ 10 ⁷ CFU/mL)	36 周
Yuan 等 ^[22]	2015 年	大鼠	无水乙醇 30 μ L	16 周
Kang 等 ^[30]	2015 年	猪	肿瘤坏死因子- α 50/100ng	12 周
Liu 等 ^[31]	2013 年	兔	1.5 μ mol/L N 端 30kDa 纤连蛋白段 25 μ L	16 周
Hoogendoorn 等 ^[32]	2008 年	山羊	软骨素酶 0.035U	26 周
Zhou 等 ^[33]	2007 年	绵羊	5-溴脱氧尿苷 4~5mg	14 周

动物易获取,操作简便且造模时间较短。

2.4.2 双足直立动物模型 双足直立动物模型是指截去大鼠前肢、利用动物疏水性、前肢支配神经切断,或者使用特殊的仪器强迫动物模拟人类直立行走,通过增加轴向负荷诱发或促进动物腰椎 IDD,这种模型主要展现了重力对人类 IDD 的影响。Goff 等^[43]最早提出截去大鼠或小鼠的双前肢后,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,建立的双足动物的腰椎承受的重力负荷明显增加,从而构建腰椎 IDD 模型。然而这种方法对动物造成较大的创伤,不利于饲养,因此便衍生出很多其他双足动物模型。Ao 等^[44]利用小鼠怕水的特性,将实验组的小鼠置于有限的含水空间,诱导小鼠主动采取双足站立姿势,每天进行两次,共 6h,干预 10 周后,与对照组相比,试验组小鼠腰椎间盘高度下降,IDD 病变程度增加,但是,与老年小鼠相比,该模型小鼠纤维环和关节突关节退变,而髓核组织退变较轻,因此尽管这种模型的小鼠用于人类椎间盘病理生理研究可能存在一定缺陷,但是这仍然是一种无创且有效的双足小鼠模型。Liang 等^[45]设计了另一种改良的双足小鼠模型,通过切断臂丛神经根从而模拟人体直立姿势。Bai 等^[46]将兔放入专门设计用于强制保持直立姿势的管中,并戴上项圈以增加腰椎间盘的压力,14 周后成功建立兔腰椎 IDD 模型。Lao 等^[47]研发了一款底部可以加热的笼子,通过底板高温诱导小鼠直立,增加脊柱轴向生物力学负荷,1 个月后小鼠出现椎间盘高度降低、软骨终板骨化,3 个月后小鼠腰椎 IDD 的组织学和生化标志物更加显著。

2.4.3 腰椎不稳模型 腰椎不稳模型是指手术破坏除椎间盘以外的脊柱支持结构,或者进行椎体间融合,打破腰椎稳定的生物力学环境,通过腰椎不稳来诱导或加速椎间盘的退变。Liu 等^[48]报告了一种腰椎不稳定的小鼠模型,手术暴露 L3~L5 棘突,分离棘旁肌肉、切除关节突和韧带,术后 1 周 L4/5 椎间盘开始出现退行性变化。Oichi 等^[49]通过手术切除小鼠腰椎小关节、棘上韧带和棘间韧带来建立腰椎不稳模型,通过影像学分析发现,术后 2 周椎间盘高度开始下降,12 周内持续下降,组织学分析同样表明腰椎呈现 IDD。Fu 等^[50]则切除 8 周龄小鼠的棘突、棘上韧带和棘间韧带,从而建立腰椎不稳模型,术后 8 周内多个时间点观察分析,发现椎间盘高度持续降低,基质成分、形态发生改变,细胞凋亡增加,感觉神经向退化的椎间盘生长。Hei 等^[51]的研究,以新西兰兔为研究对象,透视引导下用针经皮穿刺 L3/4 椎间盘,直至发生退变后切除 L3/4 椎间盘,并进行椎体间融合,分别于 4、8、12 周对腰椎融合手术的相邻椎间盘进行影像学检查,发现相邻节段 IDD 程度随时间增加而加重。Wang 等^[52]则以羊为研究对象,行 L3/4 椎间盘融合,与对照组相比,固定 6 周和 26 周的羊椎间盘高度显著降低,组织学分析表明相邻节段的椎间盘发生显著退变,然而固定 6 周和 26 周 IDD 没有显著差异。腰椎不稳模型是一种缓慢进展的 IDD 模型,虽然造模所需时间较长,

但这种模型未直接损伤椎间盘,椎间盘具有完整的纤维环且没有急性损伤,更接近人类腰椎融合手术后发生相邻节段 IDD 的情况。

3 自发退变模型

自发退变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 IDD,这种模型可避免人为操作因素的干扰。这是一种缓慢进展的 IDD 模型,与人类 IDD 相似,相比于其他造模方式,以其为模型对 IDD 机制和治疗进行研究则更令人信服。然而这种造模方式缓慢,耗时间过长,且动物之间性状差异明显。Ohnishi 等^[53]对 49 只 C57BL/6 小鼠随访观察,采用 MRI 检查和组织学分析的方法评估小鼠的腰椎 IDD 程度,结果显示小鼠腰椎 IDD 程度随年龄增长而加剧,14 个月大的小鼠会发生轻度 IDD,22 个月大的小鼠会达到中度至重度的 IDD。Zhang 等^[54]对比了 22 个月大和 6 个月大 SD 大鼠的椎间盘,老年大鼠椎间盘的钙化层比例显著增加,髓核中的水和糖胺聚糖含量减少,出现明显的 IDD。Choi 等^[55]研究了 SM/J 小鼠的早发性自发性 IDD,他们发现 8 周内髓核细胞逐渐减少,基质成分也发生改变,17 周时 IDD 程度明显加重。一项纵向研究对 22 只沙鼠进行统计评估,跟踪个体动物至 12 个月大,研究结果显示在部分沙鼠 2 个月大时,影像学上就会出现 IDD 的征象,12 个月大时,所有腰椎部位都出现终板钙化,大多数沙鼠出现椎间盘狭窄和楔形病变^[56]。Bouhsina 等^[57]探究了绵羊腰椎间盘年龄相关自发性退变的发展,他们选取了 8 只年轻母羊(<48 个月)和 4 只骨骼成熟母羊(>48 个月),发现随着年龄增加,绵羊椎间盘高度降低,IDD 程度显著增加,且绵羊腰椎间盘与人类相似,因此绵羊腰椎间盘自发退变模型可以作为研究人类腰椎 IDD 机制的一种良好选择。

4 基因改造模型

基因改造模型是指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,从而诱导 IDD。这种模型同样未对椎间盘造成人为因素的损伤,发生退行性变化的椎间盘仍保留完整的纤维环,但是其实验条件要求高、操作复杂、成本高,不适宜大量使用。Hey 等^[58]证实了通过敲除小鼠 TSC1 基因可以建立椎旁肌肉减少症模型,并且脊柱会出现受肌肉减少症影响的一系列表现,其中包括 IDD,与对照组相比,9 个月大的 TSC1 基因敲除小鼠可以观察到 IDD,与椎间盘楔形病变相一致;12 个月大的 TSC1 基因敲除小鼠椎间盘高度显著降低。Sahlman 等^[59]设计了一种 Col2a1 基因敲除的小鼠,与正常小鼠相比,Col2a1 基因敲除小鼠的终板和椎骨中的糖胺多糖含量降低,出现与人类 IDD 相似的特征。Hamrick 等^[60]对敲除 GDF-8(肌肉生长抑制素)基因小鼠进行研究,发现敲除该基因可导致椎间盘蛋白多糖含量降低和终板骨化等 IDD 征象。Beierfuß 等^[61]发现 APOE 基因敲除的新西兰兔会发

生高脂血症,胆固醇和甘油三酯水平升高,导致腰动脉发生动脉粥样硬化并阻塞,从而促进腰椎间盘突出。最近,Beierfuß等^[62]进一步的研究表明 APOE 基因敲除的家兔椎间盘表现出选择性炎症分解代谢因子的积累,进而发生退变,这类似于人类晚期 IDD 分解代谢和合成代谢的不平衡,因此,APOE 敲除的家兔有望成为腰椎 IDD 模型。目前,已发现多种基因改造 IDD 模型,通过敲除特定基因,导致实验动物异常的生长发育,或发育成熟后由于基因功能缺陷,导致椎间盘发生退变,然而生物体是一个复杂的整体,可能会通过自我调节来代偿缺失基因的功能。因此,基因改造模型的 IDD 程度尚不能实现自由调控,有待进一步研究。

5 总结与展望

根据人类 IDD 影响因素的特点,通过不同的方式建立 IDD 动物模型,然而这些模型建模方法、时间、动物选择以及适用的研究都有很大的区别,纤维环穿刺模型较为常见,纤维环穿刺并抽吸髓核效果更好,而自发退变模型则更符合人类 IDD 的过程,但动物椎间盘自发退变所需时间过长。基因改造的 IDD 模型则所需技术复杂,目前并没有广泛应用。良好的动物模型应该具有操作简单、可再现人类 IDD 过程、动物解剖与人类腰椎相似、腰椎生物力学环境与人类一致、模型重复性好、造模时间短和成本低等特点。然而,目前尚未发现理想的动物模型,但这并不影响 IDD 动物模型的研究价值,根据不同的研究需要,可以选择不同的模型。

6 参考文献

1. Teraguchi M, Yoshimura N, Hashizume H, et al. Progression, incidence, and risk factors for intervertebral disc degeneration in a longitudinal population-based cohort: the Wakayama Spine Study[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2017, 25(7): 1122–1131.
2. Mern DS, Walsen T, Beierfuß A, et al. Animal models of regenerative medicine for biological treatment approaches of degenerative disc diseases[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2021, 246(4): 483–512.
3. Chen X, Chen H, Li BL, et al. Dynamic elastic modulus assessment of the early degeneration model of an intervertebral disc in cynomolgus monkeys with one strike loading[J]. *Comput Methods Programs Biomed*, 2022, 224: 106982.
4. Wang Y, Kang J, Guo X, et al. Intervertebral disc degeneration models for pathophysiology and regenerative therapy—benefits and limitations[J]. *J Invest Surg*, 2022, 35(4): 935–952.
5. Lee NN, Kramer JS, Stoker AM, et al. Canine models of spine disorders[J]. *JOR Spine*, 2020, 3(4): e1109.
6. Ashinsky BG, Gullbrand SE, Bonnevie ED, et al. Multiscale and multimodal structure–function analysis of intervertebral disc degeneration in a rabbit model[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2019, 27(12): 1860–1869.
7. Piazza M, Peck SH, Gullbrand SE, et al. Quantitative MRI correlates with histological grade in a percutaneous needle injury mouse model of disc degeneration [J]. *J Orthop Res*, 2018, 36(10): 2771–2779.
8. Lei T, Zhang Y, Zhou Q, et al. A novel approach for the annulus needle puncture model of intervertebral disc degeneration in rabbits[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(3): 900–909.
9. Moss IL, Zhang Y, Shi P, et al. Retroperitoneal approach to the intervertebral disc for the annular puncture model of intervertebral disc degeneration in the rabbit [J]. *Spine J*, 2013, 13(3): 229–234.
10. Wang Y, Wu Y, Deng M, et al. Establishment of a rabbit intervertebral disc degeneration model by percutaneous posterolateral puncturing of lumbar discs under local anesthesia [J]. *World Neurosurg*, 2021, 154: e830–e837.
11. Huang Y, Wang L, Luo B, et al. Associations of lumbar disc degeneration with paraspinal muscles myosteatosis in discogenic low back pain [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022, 13: 891088.
12. 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): 2309499018792715.
13. Baldia M, Mani S, Walter N, et al. Development of a unique mouse intervertebral disc degeneration model using a simple novel tool[J]. *Asian Spine J*, 2021, 15(4): 415–423.
14. Qian J, Ge J, Yan Q, et al. Selection of the optimal puncture needle for induction of a rat intervertebral disc degeneration model[J]. *Pain Physician*, 2019, 22(4): 353–360.
15. 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.
16. Xi Y, Kong J, Liu Y, et al. Minimally invasive induction of an early lumbar disc degeneration model in rhesus monkeys [J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2013, 38(10): E579–586.
17. Tian Z, Ma X, Yassen M, et al. Intervertebral disc degeneration in a percutaneous mouse tail injury model [J]. *Am J Phys Med Rehabil*, 2018, 97(3): 170–177.
18. Kim KS, Yoon ST, Li J, et al. Disc degeneration in the rabbit: a biochemical and radiological comparison between four disc injury models[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2005, 30(1): 33–37.
19. Tian T, Wang H, Li Z, et al. Intervertebral disc degeneration induced by needle puncture and ovariectomy: arat coccygeal model[J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 5510124.
20. Suh HR, Cho HY, Han HC. Development of a novel model of intervertebral disc degeneration by the intradiscal application of monosodium iodoacetate (MIA) in rat [J]. *Spine J*, 2022, 22(1): 183–192.

21. Sudo T, Akeda K, Kawaguchi K, et al. Intradiscal injection of monosodium iodoacetate induces intervertebral disc degeneration in an experimental rabbit model [J]. *Arthritis Res Ther*, 2021, 23(1): 297.
22. Yuan W, Che W, Jiang YQ, et al. Establishment of intervertebral disc degeneration model induced by ischemic sub-entplate in rat tail[J]. *Spine J*, 2015, 15(5): 1050–1059.
23. Zhang C, Gullbrand SE, Schaer TP, et al. Inflammatory cytokine and catabolic enzyme expression in a goat model of intervertebral disc degeneration[J]. *J Orthop Res*, 2020, 38(11): 2521–2531.
24. 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.
25. 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.
26. Lin Y, Jiao Y, Yuan Y, et al. Propionibacterium acnes induces intervertebral disc degeneration by promoting nucleus pulposus cell apoptosis via the TLR2/JNK/mitochondrial-mediated pathway[J]. *Emerg Microbes Infect*, 2018, 7(1): 1.
27. Zamora T, Palma J, Andia M, et al. Effect of propionibacterium acnes (PA) injection on intervertebral disc degeneration in a rat model: does it mimic modic changes[J]. *Orthop Traumatol Surg Res*, 2017, 103(5): 795–799.
28. Shan Z, Zhang X, Li S, et al. Propionibacterium acnes incubation in the discs can result in time-dependent modic changes: along-term rabbit model[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2017, 42(21): 1595–1603.
29. Borem R, Walters J, Madeline A, et al. Characterization of chondroitinase-induced lumbar intervertebral disc degeneration in a sheep model intended for assessing biomaterials[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2021, 109(7): 1232–1246.
30. Kang R, Li H, Rickers K, et al. Intervertebral disc degenerative changes after intradiscal injection of TNF- α in a porcine model[J]. *Eur Spine J*, 2015, 24(9): 2010–2016.
31. Liu HF, Zhang H, Qiao GX, et al. A novel rabbit disc degeneration model induced by fibronectin fragment [J]. *Joint Bone Spine*, 2013, 80(3): 301–306.
32. 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.
33. 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.
34. 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.
35. Flouzat-Lachaniette CH, Jullien N, Bouthors C, et al. A novel in vivo porcine model of intervertebral disc degeneration induced by cryoinjury[J]. *Int Orthop*, 2018, 42(9): 2263–2272.
36. Su Q, Cai Q, Li Y, et al. A novel rat model of vertebral inflammation-induced intervertebral disc degeneration mediated by activating cGAS/STING molecular pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(20): 9567–9585.
37. Wei F, Zhong R, Pan X, et al. Computed tomography-guided sub-end plate injection of pingyangmycin for a novel rabbit model of slowly progressive disc degeneration[J]. *Spine J*, 2019, 19(2): e6–e18.
38. 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.
39. Jin Y, Mao G, Yang C, et al. Establishment of a new model of lumbar intervertebral disc degeneration with pathological characteristics[J]. *Global Spine J*, 2021: 21925682211012323.
40. Yurube T, Hirata H, Ito M, et al. Involvement of autophagy in rat tail static compression-induced intervertebral disc degeneration and notochordal cell disappearance[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 5648.
41. Liu Z, Zhou Q, Zheng J, et al. A novel in vivo mouse intervertebral disc degeneration model induced by compressive suture[J]. *Exp Cell Res*, 2021, 398(1): 112359.
42. Ji Y, Zhu P, Zhang L, et al. A novel rat tail disc degeneration model induced by static bending and compression [J]. *Animal Model Exp Med*, 2021, 4(3): 261–267.
43. Goff CW, Landmesser W. Bipedal rats and mice; laboratory animals for orthopaedic research [J]. *J Bone Joint Surg Am*, 1957, 39-A(3): 616–622.
44. Ao X, Wang L, Shao Y, et al. Development and characterization of a novel bipedal standing mouse model of intervertebral disc and facet joint degeneration[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2019, 477(6): 1492–1504.
45. Liang X, Shen H, Shi WD, et al. Effect of axial vertical vibration on degeneration of lumbar intervertebral discs in modified bipedal rats: an in-vivo study[J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2017, 10(7): 714–717.
46. 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.
47. Lao YJ, Xu TT, Jin HT, et al. Accumulated spinal axial biomechanical loading induces degeneration in intervertebral disc of mice lumbar spine[J]. *Orthop Surg*, 2018, 10(1): 56–63.
48. Liu S, Sun Y, Dong J, et al. A mouse model of lumbar spine instability[J]. *J Vis Exp*, 2021: 170.
49. 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.
50. Fu F, Bao R, Yao S, et al. Aberrant spinal mechanical loading stress triggers intervertebral disc degeneration by inducing pyroptosis and nerve ingrowth[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 772.
51. Hei L, Ge Z, Yuan W, et al. Evaluation of a rabbit model of adjacent intervertebral disc degeneration after fixation and fusion and maintenance in an upright feeding cage[J]. *Neurol Res*, 2021, 43(6): 447–457.
52. Wang T, Pelletier MH, Christou C, et al. A novel in vivo large animal model of lumbar spinal joint degeneration [J]. *Spine J*, 2018, 18(10): 1896–1909.
53. Ohnishi T, Sudo H, Tsujimoto T, et al. Age-related spontaneous lumbar intervertebral disc degeneration in a mouse model[J]. *J Orthop Res*, 2018, 36(1): 224–232.
54. Zhang YG, Sun ZM, Liu JT, et al. Features of intervertebral disc degeneration in rat's aging process[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2009, 10(7): 522–527.
55. 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.
56. Gruber HE, Johnson T, Norton HJ, et al. The sand rat model for disc degeneration: radiologic characterization of age-related changes: cross-sectional and prospective analyses[J]. *Spine(Phila Pa 1976)*, 2002, 27(3): 230–234.
57. Bouhsina N, Decante C, Hardel JB, et al. Correlation between magnetic resonance, X-ray imaging alterations and histological changes in an ovine model of age-related disc degeneration[J]. *Eur Cell Mater*, 2021, 42: 166–178.
58. Hey HWD, Lam WMR, Chan CX, et al. Paraspinal myopathy-induced intervertebral disc degeneration and thoracolumbar kyphosis in TSC1mKO mice model—a preliminary study [J]. *Spine J*, 2022, 22(3): 483–494.
59. Sahlman J, Inkinen 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 (Phila Pa 1976)*, 2001, 26(23): 2558–2565.
60. 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.
61. Beierfuß A, Dietrich H, Kremser C, et al. Knockout of apolipoprotein E in rabbit promotes premature intervertebral disc degeneration: a new in vivo model for therapeutic approaches of spinal disc disorders[J]. *PLoS One*, 2017, 12(11): e0187564.
62. Beierfuß A, Hunjadi M, Ritsch A, et al. APOE-knockout in rabbits causes loss of cells in nucleus pulposus and enhances the levels of inflammatory catabolic cytokines damaging the intervertebral disc matrix[J]. *PLoS One*, 2019, 14(11): e0225527

(收稿日期:2022-09-02 末次修回日期:2022-11-24)

(本文编辑 谭 啸)