

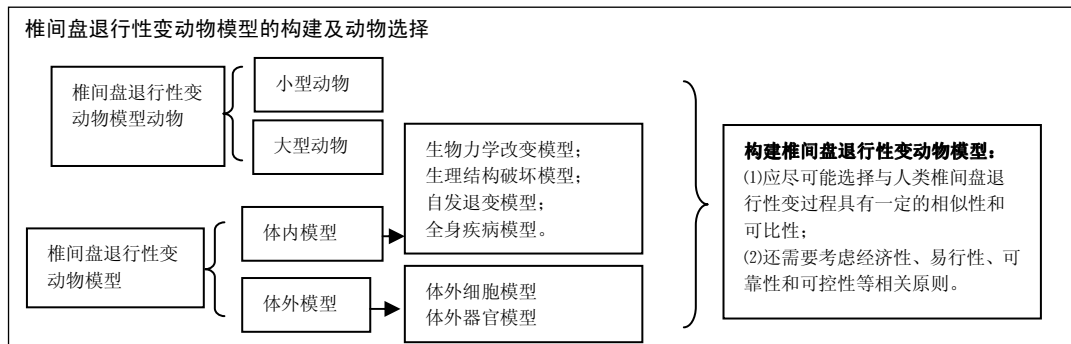
椎间盘退行性变动物模型：经济性、易行性、可靠性和可控性

尹逊路¹, 冯敏山^{1,2}, 朱立国^{1,2}, 李学朋¹, 陈琳³, 李玲慧¹, 展嘉文¹, 魏戌¹(¹中国中医科学院望京医院, 北京市 100102; ²中医正骨技术北京市重点实验室, 北京市 100102; ³北京中医药大学, 北京市 100102)

DOI:10.3969/j.issn.2095-4344.0100

ORCID: 0000-0002-3388-4215(尹逊路)

文章快速阅读:



尹逊路, 男, 1988年生, 山东省肥城市人, 汉族, 中国中医科学院在读博士, 医师, 主要从事脊柱及相关疾病的研究。

通讯作者: 冯敏山, 博士, 副主任医师, 中国中医科学院望京医院, 北京市 100102; 中医正骨技术北京市重点实验室, 北京市 100102

中图分类号:R318

文献标识码:A

稿件接受: 2017-10-20



文题释义:

特定基因敲除模型: 将特定基因敲除后, 通过影响椎间盘代谢或物质合成, 导致其生理结构、生化性质改变, 进而引发退变。该种造模方法为遗传和药物靶点的研究提供了基础, 但存在造模成功率低、易行性差、经济成本高等问题。

椎间盘器官离体模型: 根据有无终板分为: 带终板椎间盘器官离体模型和去终板椎间盘器官离体模型。椎间盘由髓核、纤维环、终板 3 部分组成, 且终板是椎间盘进行营养和代谢物质的通道, 具有维持椎间盘完整性及限制组织膨胀压的作用。当前对于该模型是否应带有终板, 不同学者间仍存在争议。

摘要

背景: 椎间盘退行性变动物模型是研究椎间盘退变发生机制、预防和治疗该疾病的重要载体和平台。构建一种合理可行、模拟程度较高的理想动物模型, 成为深入研究椎间盘退变的关键。

目的: 通过对当前椎间盘退行性变动物模型的模式动物选择、模型构建方法的分析比较, 以期为今后椎间盘退行性变动物模型的选择提供依据, 为将来理想动物模型的建立提供参考。

方法: 通过对 CNKI、万方、维普、Sinomed 及 PubMed 等数据库进行检索。检索时间为建库到 2016 年 12 月; 中文检索关键词为“椎间盘退行性变”“动物模型”; 英文检索关键词为“intervertebral disc degeneration”“animal model”。选择权威杂志文章, 共纳入 56 篇文章。

结果与结论: 用于研究椎间盘退行性变动物模型的模式动物种类很多, 主要分为小型动物和大型动物。小型动物椎间盘的体表比大, 有利于营养及代谢物质的渗透, 适合做长期体外培养; 而大型动物椎间盘体积大, 适合生物力学的研究。在椎间盘退行性变动物模型中有体内模型和体外模型之别; 体内模型根据损伤机制的不同分为: 生物力学改变模型、生理结构破坏模型、自发退变模型及全身疾病模型; 体外模型根据培养组织水平的不同分为体外细胞模型、体外器官模型。构建椎间盘退行性变动物模型的方法多样、模式动物种类较多, 但仍没有一种公认的、可以较为全面的模拟人类椎间盘退变的理想动物模型, 应尽可能选择与人类椎间盘退行性变过程具有一定的相似性和可比性, 还需要考虑经济性、易行性、可靠性和可控性等相关原则。

关键词:

椎间盘退行性病; 动物模型; 组织构建; 实验动物; 模式动物; 组织工程实验造模

主题词:

椎间盘退化; 模型; 动物; 组织工程

基金资助:

国家中医药管理局专项课题(JDZX2015274); 国家自然科学基金(81674005, 81774330); 北京市自然科学基金(7164313); 中国博士后科学基金(2016M591364)

Animal models of intervertebral disc degeneration: economy, feasibility, reliability and controllability

Yin Xun-lu¹, Feng Min-shan^{1,2}, Zhu Li-guo^{1,2}, Li Xue-peng¹, Chen Lin³, Li Ling-hui¹, Zhan Jia-wen¹, Wei Xu¹ (¹Wangjing Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China; ²Beijing Key Laboratory of Palasy Technology, Beijing 100102, China; ³Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Yin Xun-lu, Studying for doctorate, Physician, Wangjing Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China

Corresponding author: Feng Min-shan, M.D., Associate chief physician, Wangjing Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100102, China; Beijing Key Laboratory of Palasy Technology, Beijing 100102, China

Abstract

BACKGROUND: Animal models are critical to study the mechanism, prevention and treatment of intervertebral disc degeneration (IDD). Therefore, constructing an ideal animal model of IDD is the key to further study IDD.

OBJECTIVE: To review the selection and construction methods of the IDD model, so as to select and construct an ideal animal model of IDD.

METHODS: A retrieval of CNKI, WanFang, VIP, SinoMed and PubMed databases was performed for the articles published before December 2016. The keywords were "intervertebral disc degeneration, animal model" in English and Chinese, respectively. All the articles were selected from the authoritative magazines, and finally 56 eligible articles were included.

RESULTS AND CONCLUSION: There are many kinds of animals used for constructing the IDD model, including small and large animals. The former has a small volume of intervertebral disc that is beneficial for nutrient and metabolite transport, so it can be used for long-term *in vitro* culture. The latter has a large volume of intervertebral disc, which is appropriate for biomechanical study. The animal models of IDD include *in vivo* and *in vitro* models: the *in vivo* models include the changed biomechanics, destroyed physical structure, spontaneous and systemic disease models; the *in vitro* models include *in vitro* cellular and organ models. However, there is still a lack of an ideal animal model that can fully simulate human IDD. Noticeably, similarity, comparability, economy, feasibility, reliability and controllability should be considered.

Subject headings: Intervertebral Disk Degeneration; Models, Animal; Tissue Engineering

Funding: the Project of State Administration of Traditional Chinese Medicine of China, No. JDZX2015274; the National Natural Science Foundation of China, No. 81674005 and 81774330; the Natural Science Foundation of Beijing, No. 7164313; the Postdoctoral Science Foundation of China, No. 2016M591364

0 引言 Introduction

椎间盘退行性疾病是由多种因素所导致的一种临床常见病^[1];近年来,该病发病率呈逐年上升的趋势^[2]。作为研究椎间盘退变发生机制、预防和治疗该疾病的重要载体和平台,椎间盘退行性变动物模型具有重要作用;虽然临床对该病进行了大量的研究,但由于理想动物模型构建受限,使临床人员对于发病机制的认识尚存在不足,从而导致无法根治该病。因此,如何有效的构建一种理想的椎间盘退行性变动物模型成为深入研究并治疗该疾病的关键。自80多年前Lob^[3]首次通过损伤椎间盘纤维环建立椎间盘退变动物模型以来,构建模型动物的种类和方法已有长足的改进和发展;然而,至今仍未有一种理想动物模型得到公认。作者对近年来椎间盘退行性变动物模型的相关研究概述如下。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 通过对CNKI、万方、维普、Sinomed及PubMed等数据库进行检索。检索时间为建库到2016年12月;中文检索关键词为“椎间盘退行性变”“动物模型”;英文检索关键词为“intervertebral disc degeneration”“animal model”。选择权威杂志文章,共纳入46篇文章。

1.2 纳入和排除标准

纳入标准: ①文献内容与椎间盘退行性变及动物模型相关;②该领域在权威杂志上发表的相关文章。

排除标准: ①文献内容重复;②文献内容、数据不完整。

1.3 文献质量评估 所选文献杂志具有权威性,文献内容具有代表性。

1.4 数据提取 文献数据由3人分别提取,若有分歧,则通过商讨并决定争议文献是否被纳入;文献数据提取内容为椎间盘退行性变动物模型构建方法及模式动物种类。

1.5 纳入文献基本情况 共纳入56篇文献,其中模式动物种类选择相关文献共18篇^[4-21],动物模型构建方法相关文献共31篇^[3, 22-51],相关进展4篇^[52-56]。根据所纳入的相关文献,对椎间盘退行性变动物模型的构建方法和模式动物种类进行相应的归纳和总结。

2 结果 Results

2.1 模式动物的选择 用于研究椎间盘退行性变动物模型的模式动物种类很多,但主要分为两大类,即小型动物和大型动物。选择合适的模式动物对后续的实验研究至关重要,如在体外器官模型中,考虑到营养物质的弥散距离,小型动物椎间盘的体表比大,有利于营养及代谢物质的渗透,适合做长期体外培养;而大型动物椎间盘体积大,适合生物力学的研究。

2.1.1 小型动物

(1)鼠类:当前,常用于椎间盘退行性变研究的鼠类主要是大鼠和小鼠^[4-6],此外还有沙鼠、仓鼠等。鼠类作为动物模型,具有经济适用、种系纯、基因相似度高、抗感染、生命力强等优势;然而,受其体型小、椎间盘体积小等客观因素的影响,造成影像学指标测量困难、生物学检测标本获取量少等不足。Moskowitz等^[7]研究发现,沙鼠受长期高盐低水习惯的影响,椎间盘普遍较早退变(椎间盘退变率在3月龄时约为10%,18月龄时约为50%),且该性状具有较强的遗传性。Silberberg等^[8]对糖尿病发生率较高的仓鼠进行脊柱学相关研究发现:糖尿病仓鼠相比于非糖尿病仓鼠,脊柱炎的发生率分别为60%和39%,而椎间盘突出发生率分别为9%和30%。

(2)兔类:作为常用的实验动物之一,具有取材便利、经济适用等特点;相比于鼠类,其椎间盘体积较大,操作方便、便于影像学指标测量,且结构与人类基本相同。Lipson等^[9]研究发现:造模前兔椎间盘含水量及蛋白多糖单体大小与人类相似,但其透明质酸浓度及蛋白多糖

聚合物占蛋白多糖总量的百分比与人类存有差异;造模12个月后,各项观察指标(除蛋白多糖单体大小外)变化规律与人类相似。

2.1.2 大型动物

(1)犬类:实验犬的种类比较多,主要包括德克萨斯犬、哈巴狗、猎犬、长毛耳垂犬等。相比于小型动物,犬椎间盘及椎体体积更接近于人类,操作性及可行性更好;然而其经济适用性相对较低。Gillett等^[10]通过对不同年龄阶段的猎犬进行研究后,认为犬的椎间盘退行性变的进程与人类相似;Goggin等^[11]则对不同的种犬进行比较研究,发现德克萨斯犬患椎间盘突出的相对危险度最大。

(2)羊类:羊的种系较多,取材较为方便,其脊柱解剖结构、椎间盘及椎体大小与人类较为相似;而且羊的胸腰段脊柱在某些指标上与人类具有相似之处,因此可以作为理想的实验动物;然而,相比于小型动物,羊的经济成本相对较高,从而限制了羊作为体内模型动物的大量使用。Paul等^[12]研究发现,山羊椎间盘中只有软骨细胞和成纤维细胞,而没有脊索细胞,这与人类在生物学方面有一定的相似性;Gantenbein等^[13]认为,羊尾椎间盘在营养和代谢产物渗透方面与人类存在相似性,故羊尾椎间盘适合作为人类椎间盘退变模型;任东风等^[14]通过对羊腰椎破裂模型进行研究后,认为经山羊腰椎间盘前方人为损伤后部纤维环内层,可以可靠、一致地制备椎间盘内核破裂模型。

(3)猪类:猪由于在解剖学、生理学方面与人类有极大的相似性,且体型相对较大、易于操作,且部分种类的猪经济适用,因此在国外也是被广泛应用的模型动物之一。当前由于缺少关于猪和人类腰脊柱解剖学之间的对比资料,国内将其作为实验动物的研究还是比较少^[15],但国外许多学者如Kappa等^[16-17]已将猪作为动物模型进行研究相关脊柱疾病,并积累了一定的经验。

(4)灵长类:用作模型的灵长类动物主要包括恒河猴、狒狒等。该类动物与人类亲缘关系最近,在生理特性、解剖结构和生活习性等方面也都极为相似,可以作为研究对象直接进行观察^[15]。然而,由于其种类、数量的有限性,尤其是价格的高昂性,限制了灵长类作为模型动物的广泛应用。Simon等^[18-19]学者应用恒河猴进行了脊柱生物力学方面的研究,郭常安等^[20]用恒河猴作椎间盘退变动物模型研究;Laueran等^[21]通过对不同年龄段的狒狒进行影像学研究发现狒狒椎间盘具有退变早、发生率高的特点,且接近人类椎间盘退行性变的规律。

2.2 动物模型的建立 在椎间盘退行性变动物模型中,虽然建立模型方法很多,但归纳起来只有体内模型和体外模型之别;体内模型根据损伤机制的不同分为:生物力学改变模型、生理结构破坏模型、自发退变模型及全身疾病模型^[22];体外模型根据培养组织水平的不同分为体外细胞模型、体外器官模型^[23]。

2.2.1 体内模型

(1)生物力学改变模型:该模型主要是通过改变椎间盘与椎体等结构间的生物力学状态,造成椎间盘的退变。其类型包括:去前肢动物模型、应力改变模型、脊柱失稳模型。

去前肢动物模型:当前,该模型动物主要为新生大鼠。将其双前肢结扎后,使其双后肢站立活动;造模时间一般为14-18个月。Bailey等^[24]研究后认为,该动物模型存在时间成本高、椎间盘退变率不稳定等不足,且临床相似性低;因此,该模型目前未被广泛应用。

应力改变模型:其模型动物主要为小型动物,一般为大鼠;也有应用大型动物,如羊。该模型通过异常应力破坏椎间盘的结构,导致椎间盘退变^[25]。早期应力改变模型是将鼠尾弯成“U”型^[26],造模时间一般为2周至14个月;后期改良模型为轴向加压动物模型^[27]:将轴性加压装置置于鼠尾,通过轴向某一频率的动态或静态加压,从而破坏椎间盘静水压,进而改变椎间盘基质成分,最终导致椎间盘退行性变。早期“U”型应力退变模型由于会出现尾部凹侧结缔组织破坏、细胞数目减少等不良反应,故逐渐被轴向加压动物模型替代。虽然改良模型也存在一些需要问题,如:造模过程中有克氏针劈裂椎体使脊髓损伤、针道感染等可能,轴向加压装置尚不能模拟人体椎间盘所受的剪切力和扭转力等^[28];但其具有良好的可控性和可重复性、造模周期短,可以模拟重力对椎间盘的影响等优势,其应用前景较为广阔。

脊柱失稳模型:该类造模方法对大、小型动物均适合。通过咬除椎体后柱部分结构(如关节突、棘突)或破坏一侧椎旁肌(切断或反复电刺激等)^[29],破坏脊柱的动态、静态平衡,导致椎间盘退变^[30];造模时间一般为3-8个月。脊柱失稳模型虽然具有较好的操作性,但是也存在造模时间长、不易控制、可重复性差等问题^[1]。

(2)生理结构破坏模型:即通过物理或化学方法破坏椎间盘的生理结构,最终导致椎间盘退变;其模型种类分为:机械损伤模型、化学损伤模型。

机械损伤模型:根据其损伤椎间盘位置的不同又可分为纤维环损伤模型、终板损伤模型及髓核损伤模型。

纤维环损伤模型:纤维环损伤方法分为切开法及穿刺法。虽然自Key等^[31]首次将兔椎间盘纤维环直接切开造成退变模型后,后人不断对其进行改进,但该法在可控性、标准化等方面仍存在诸多问题。近年来,纤维环穿刺法发展不断成熟且应用相对广泛。该法以一定的次数和深度(兔:5 mm;鼠:1-5 mm;牛:15 mm)将直径固定的穿刺针刺入椎间盘,间接诱发椎间盘退行性变^[28, 32]。虽然该法所造模型退变的程度和速度受操作者操作手法(深度和次数)的影响,但其具有较高的可重复性、可操作性及适用性,造模周期短(鼠类:2-4周;兔:8-12周),因而被广泛应用。

终板损伤模型: 通常是经过椎体和软骨终板斜钻一个到达椎间盘的的孔洞^[33], 也有学者将骨水泥直接打入椎间盘的上下终板区域^[34], 从而通过破坏终板与椎间盘之间营养及代谢物质通道达到椎间盘发生退变的目的。然而, 由于该种造模方法钻孔时角度、深度以及对终板的损伤程度难以控制, 因而影响了该种模型的可靠性、可控性、可重复性等, 因而并不常被采用。

髓核损伤模型: 是用注射器将髓核组织部分抽吸, 通过破坏其静水压达到造模目的; 造模时间一般为4-8周。该方法所造椎间盘退变模型效果显著, 尤其适合大型动物, 其病理及影像学表现与人椎间盘退变十分相似^[35]。

化学损伤模型: 即通过向椎间盘内注射化学物质, 从而使髓核细胞死亡、基质急剧减少, 最终达到使椎间盘退变的目的。常用的化学物质主要是酶类, 包括: Cp、CABC、肿瘤坏死因子 α 等^[36-38]; 此外还有非酶类化学物质, 如: 博来霉素等。该法虽然可以在较短时间内造成显著的退变模型, 但是这与人类椎间盘退变的发生机制差异较大, 并且对后续的生化检测指标、生物学疗效等均造成一定程度的影响^[28]。因此, 虽然该法具有较好的可重复性、可操作性, 但上述弊端的存在严重降低了该模型的临床相似性及可靠性, 使其应用范围逐渐减小。

(3)自发退变模型: 自发退变模型主要包括3类: 特定基因敲除模型、椎间盘自发退变的特种动物模型及缺血模型(表1)。

表1 自发退变模型

自发退变模型	特点
特定基因敲除模型	将特定基因敲除后, 通过影响椎间盘代谢或物质合成, 导致其生理结构、生化性质改变, 进而引发退变 ^[39] 。该种造模方法为遗传和药物靶点的研究提供了基础, 但存在造模成功率低、易行性差、经济成本高等问题。
自发椎间盘退变的特种动物模型	常用的为沙鼠。沙鼠椎间盘退变具有出现早、发生率高、遗传性相对较高等特点。
缺血模型	即通过阻断终板与椎间盘之间的物质交换通道-血管, 影响营养和代谢物质运输, 最终形成退变模型。但该模型存有争议性, 部分学者发现此方法未造成椎间盘退变 ^[34] 。

(4)全身疾病模型: 包括吸烟模型^[40]、卵巢切除模型等^[41]。虽然这些模型能较好的拟合导致人类椎间盘退变中的某一因素, 但其可重复性差、造模成功率低。

2.2.2 体外模型

(1)体外细胞模型: 即采用细胞生物学技术对椎间盘细胞进行体外培养, 并观察其生长、增殖和分化的规律及特点。该模型通过采用外部干预处理, 探索单一因素对椎间盘退变的影响。当前, 体外细胞造模技术已较成熟, 且相关检测技术也日臻完善, 尤其是近年来基因组学、高通量测序等技术的高速发展, 为椎间盘退变的深入研究提供了基础。然而, 在细胞培养过程中也面临诸

多问题: 单层细胞培养多次传代后, 易出现细胞形态改变、活力下降^[42]; 离体环境下细胞基质的缺失, 导致细胞增殖率低、表型缺失^[43], 甚至发生分化或丧失功能^[44]。

(2)体外器官模型: 根据是否带有椎体分为两类: 椎间盘器官离体模型和脊柱运动节段离体模型。

椎间盘器官离体模型根据有无终板分为: 带终板椎间盘器官离体模型和去终板椎间盘器官离体模型。椎间盘由髓核、纤维环、终板3部分组成, 且终板是椎间盘进行营养和代谢物质的通道, 具有维持椎间盘完整性及限制组织膨胀压的作用。当前对于该模型是否应带有终板, 不同学者间仍存在争议。Korecki, Lee等^[45-46]认为, 去除终板后可以使营养物质直接扩散到髓核, 但不适合长期培养研究; Gawri等^[47]则认为, 通过预处理终板可以在保持椎间盘器官完整性的同时, 限制组织肿胀并保证营养物质供给。

脊柱运动节段离体模型, 在体外状态下最大限度的保留了组织器官的完整性, 更好的拟合了椎间盘在人体内的生理环境、力学负荷等因素; 同时, 椎体的保留为脊柱生物力学加载装置提供了着力点, 有利于对复杂力学与椎间盘退变之间关系的研究^[48]。

椎间盘退变体外器官模型作为体内模型和体外细胞模型之间的桥梁, 能够在外界干预下的原生细胞外基质中维持细胞的活性^[49]; 而且, 该模型为研究椎间盘对外界刺激的反应和观察正常与退变椎间盘的组织学变化创造了良好的实验平台(图1)^[50-51]。

3 展望 Prospects

近年来, 椎间盘退行性变的发病率呈逐年上升的趋势, 引发了越来越多人对该病的关注和重视, 推动了医疗相关人员对该病的深入研究。而椎间盘退行性变动物模型是研究椎间盘退变发生机制、预防和治疗该疾病的重要载体和平台; 通过对动物模型的研究, 有利于了解椎间盘退行性变发生的本质^[52-54]、并为治疗提供前期基础, 因而椎间盘退行性变动物模型逐渐成为研究的热点。

虽然当前构建椎间盘退行性变动物模型的模式动物种类和建模方法很多, 但仍没有一种公认的、可以较为全面的模拟人类椎间盘退变的理想动物模型。如何构建一种合理可行、模拟程度较高的新型理想动物模型, 成为当前研究和治疗椎间盘退行性变相关问题的关键。

椎间盘退行性变动物模型的构建和模型动物种类的选择, 应尽可能的与人类椎间盘退行性变过程具有一定的相似性和可比性; 此外, 还需要考虑经济性、易行性、可靠性和可控性等相关原则^[55-56]。当前椎间盘退行性变动物模型也存在一些不足, 如: ①模拟程度低, 临床相似性和可比性差: 人类椎间盘退行性变是一个多因素长期缓慢的复杂致病过程, 由于受限于研究目的, 当前动物模型只能侧重于短期内某一或某几个因素的研究

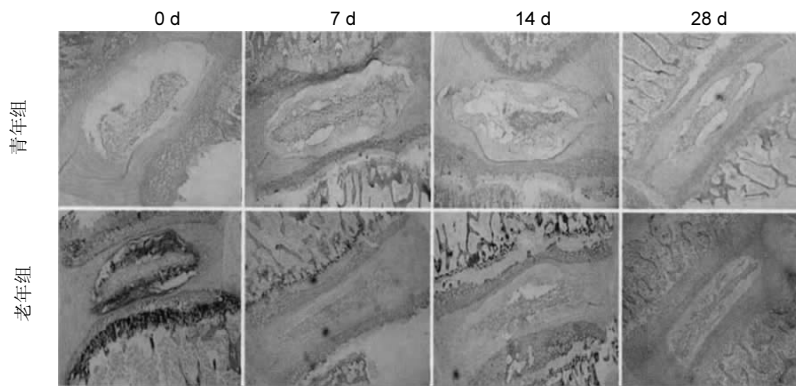


图1 器官培养各时间点老年组和青年组大鼠椎间盘矢状面石蜡切片苏木精-伊红染色(倒置相差显微镜, $\times 100$)^[50]

究,不能很好的模拟人类椎间盘退变的真实过程;②可控性不强,量化指标易受影响:多因素均可对动物模型造成影响,不利于对椎间盘退行性变单因素影响的分析,从而影响单因素导致退变过程的重复验证,造成标准化或量化的困难;③普遍存在研究周期短的问题,对于单一或复杂因素对椎间盘的长期影响观察不足;④模式动物种类和个体化的差异造成椎间盘退变进展程度的控制困难;⑤研究目的主要集中于生物化学及机械力学方面,对神经电生理方面的相关研究较少。

如何解决椎间盘退行性变动物模型中所面临的这些问题,这将是一个长期不断探索的过程。基于现有的研究条件,一方面需根据研究目的,结合自身实际,选择恰当的模式动物和建模方法,从而进一步深化对椎间盘退行性变机制和治疗的认识;另一方面,借助当前飞速发展的新技术,如表观遗传学技术、高通量技术、计算机模拟技术等,改良当前或建立新的动物模型,为椎间盘退行性变的研究寻找新的突破口。

作者贡献: 文章构思、资料收集和成文由第一作者和通讯作者完成,数据提取由其他3人完成;文章负责人为尹逊路,由冯敏山、朱立国、李学鹏及李玲慧参与校审。

经费支持: 该文章接受了“国家中医药管理局专项课题(JDZX2015274)”、“国家自然科学基金(81674005, 81774330)”、“北京市自然科学基金(7164313)”、“中国博士后科学基金(2016M591364)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 文章的撰写与编辑修改后文章遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA指南)。

文章查重: 文章出版前已经过CNKI反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审,符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁,可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享3.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩

展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] 王海莹,张旭,丁文元,等.椎间盘退变动物模型的研究进展[J].中国脊柱脊髓杂志,2015,25(3):279-281.
- [2] 高乾,程英武.腰椎间盘突出动物模型的研究进展[J].中华中医药杂志,2012,27(12):2165-68.
- [3] Lob. Die zusammenhänge zwischen der Bandscheiben und der Spondylosis deformans im Tierversuch. Deutsche Zeitschrift für Chirurgie. 1933:240-421.
- [4] Risbud MV, Izzo MW, Adams CS, et al. An organ culture system for the study of the nucleus pulposus: description of the system and evaluation of the cells. Spine (Phila Pa 1976).2003;28(24):2652-2658; discussion 2658-2659.
- [5] Lim TH, Ramakrishnan PS, Kurriger GL, et al. Rat spinal motion segment in organ culture: a cell viability study. Spine (Phila Pa 1976).2006;31(12):1291-1297; discussion 1298.
- [6] Ariga K, Yonenobu K, Nakase T, et al. Mechanical stress-induced apoptosis of endplate chondrocytes in organ-cultured mouse intervertebral discs: an ex vivo study. Spine (Phila Pa 1976). 2003;28(14):1528-33.
- [7] Moskowitz RW, Ziv I, Denko CW, et al. Spondylosis in sand rats: a model of intervertebral disc degeneration and hyperostosis. J Orthop Res. 1990;8(3):401-411.
- [8] Silberberg R, Gerritsen G. Aging changes in intervertebral discs and spondylosis in Chinese hamsters. Diabetes. 1976; 25(6):477-83.
- [9] Lipson SJ, Muir H. 1980 Volvo award in basic science. Proteoglycans in experimental disc degeneration. Spine (Phila Pa 1976). 1981;6(3):194-210.
- [10] Gillett NA, Gerlach R, Cassidy JJ, et al. Age-related changes in the beagle spine. Acta Orthop Scand. 1988;59(5):503-507.
- [11] Goggin JE, Li AS, Franti CE. Canine intervertebral disk disease: characterization by age, sex, breed and anatomic site of involvement. Am J Vet Res. 1970;31(9):1687-1692.
- [12] Paul CP, Zuiderbaan HA, Zandieh Doulabi B, et al. Simulated-physiological loading conditions preserve biological and mechanical properties of caprine lumbar intervertebral discs in ex vivo culture. PLoS One. 2012; 7(3):e33147.
- [13] Gantenbein B, Grünhagen T, Lee CR, et al. An in vitro organ culturing system for intervertebral disc explants with vertebral endplates: a feasibility study with ovine caudal discs. Spine (Phila Pa 1976). 2006;31(23):2665-2673.

- [14] 任东风,侯树勋,彭宝淦,等.腰椎间盘内破裂模型的建立[J].中国疼痛医学杂志,2006,12(6):353-356.
- [15] 陈亮,吕朝辉.腰椎间盘退变动物模型的研究概况[J].中国中医骨伤科杂志,2008,16(12):59-60.
- [16] Kääpä E, Holm S, Han X, et al. Collagens in the injuries porcine intervertebral disc. *J Orthop Res.*1994;12(1):93-102.
- [17] Pfeiffer M, Griss P, Franke P, et al. Degeneration model of the porcine lumbar motion segment: effects of various intradiscal procedures. *Eur Spine J.*1994;3(1): 8-16.
- [18] Simon BR, Wu JS. Poroelastic dynamic structural models of rhesus spinal motion segments. *Spine (Phila Pa 1976).*1985; 10(6):494-507.
- [19] 阮狄克, 费正奇,陆殿骥,等.冷冻保存异体椎间盘移植的实验研究[J].中华骨科杂志,1999,19(1):54-58.
- [20] 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.
- [21] Lauerma WC, Platenberg RC, Cain JE, et al. Age-related disk degeneration: Preliminary report of a naturally occurring baboon model. *J Spinal Disord.*1992;5(2): 170-174.
- [22] 刘彬彬,张柳,田发明,等.椎间盘退变动物模型及降钙素治疗的研究进展[J].中国修复重建外科杂志,2014,28(8):1051-1053.
- [23] 杨松波,高春华,庞晓东,等.椎间盘退变模型的研究进展[J].脊柱外科杂志,2012, 10(5):315-317
- [24] Bailey AS, Adler F, Min Lai S, et al. A comparison between bipedal and quadrupedal rats: do bipedal rats actually assume an upright posture. *Spine (Phila Pa 1976).*2001;26(14):E308-13.
- [25] 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. *Spine (Phila Pa 1976).*1984;9(6):608-613.
- [26] Lindblom K. Intervertebral-disc degeneration considered as a pressure atrophy. *J Bone Joint Surg Am.* 1957;39-A(4): 933-945.
- [27] 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. *Spine (Phila Pa 1976).* 2008;33(25):2721-2727.
- [28] 顾韬,张超,何勃,等.不同类型椎间盘退变动物模型的评价与比较[J].脊柱外科杂志,2015,13(2):115-120.
- [29] Sullivan JD, Farfan HF, Kahn DS. Pathologic changes with intervertebral joint rotational instability in the rabbit. *Can J Surg.* 1971;14:71-79.
- [30] Wang YJ, Shi Q, Lu WW, et al. Cervical intervertebral disc degeneration induced by unbalanced dynamic and static forces: a novel in vivo rat model. *Spine (Phila Pa 1976).*2006; 31(14):1532-1538.
- [31] Key JA, Ford LT. Experimental intervertebral disc lesion. *J Bone Joint Surg Am.*1948;30(3):621-629.
- [32] Aoki Y, Akeda K, An H, et al. Nerve fiber ingrowth into scar tissue formed following nucleus pulposus extrusion in the rabbit annular-puncture disc degeneration model: effects of depth of puncture. *Spine (Phila Pa 1976).*2006;31(21):E774-80.
- [33] 吕浩然,杨进顺,黄文锋,等.终板损伤建立兔腰椎间盘退变模型[J].广东医学,2008,29(1):44-45.
- [34] Hutton WC, Murakami H, Li J, et al. The effect of blocking a nutritional pathway to the intervertebral disc in the dog model. *J Spinal Disord Tech.*2004;17(1):53-63.
- [35] 周松,李锋,陈安民,等.抽洗法诱导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.
- [36] Lotz JC. Animal models of intervertebral disc degeneration: lessons learned. *Spine (Phila Pa 1976).*2004;29(23):2742-2750.
- [37] Hoogendoorn RJ, Wuisman PI, Smit TH, et al. Experimental intervertebral disc degeneration induced by chondroitinase ABC in the goat. *Spine (Phila Pa 1976).*2007;32(17):1816-1825.
- [38] Kang R, Li H, Rickers K, et al. Intervertebral disc degenerative changes after intradiscal injection of TNF- α in a porcine model. *Eur Spine J.*2015;24(9):2010-2016.
- [39] Boyd LM, Richardson WJ, Allen KD, et al. Early-onset degeneration of the intervertebral disc and vertebral end plate in mice deficient in type IX collagen. *Arthritis Rheum.* 2008; 58(1):164-171.
- [40] Oda H, Matsuzaki H, Tokuhashi Y, et al. Degeneration of intervertebral discs due to smoking: experimental assessment in a rat-smoking model. *J Orthop Sci.*2004;9(2):135-141.
- [41] Wang T, Zhang L, Huang C, et al. Relationship between osteopenia and lumbar intervertebral disc degeneration in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int.*2004;75(3):205-213.
- [42] Preradovic A, Kleinpeter G, Feichtinger H, et al. Quantitation of collagen I, collagen II and aggrecan mRNA and expression of the corresponding proteins in human nucleus pulposus cells in monolayer cultures. *Cell Tissue Res.*2005;321(3):459-464.
- [43] Gruber HE, Hanley EN, Jr. Human discs cells in monolayer vs 3D culture: cell shape, division and matrix formation. *BMC Musculoskelet Disord.*2000,1:1.
- [44] Zhang Y, Phillips FM, Thonar EJ, et al. Cell therapy using articular chondrocytes overexpressing BMP-7 or BMP-10 in a rabbit disc organ culture model. *Spine (Phila Pa 1976).*2008; 33(8):831-838.
- [45] Korecki CL, MacLean JJ, Iatridis JC. Characterization of an in vitro intervertebral disc organ culture system. *Eur Spine J.*2007; 16(7):1029-37.
- [46] Lee CR, Iatridis JC, Poveda L, et al. In vitro organ culture of the bovine intervertebral disc: effects of vertebral endplate and potential for mechanobiology studies. *Spine (Phila Pa 1976).*2006;31(5):515-522.
- [47] Gawri R, Mwale F, Ouellet J, et al. Development of an organ culture system for long-term survival of the intact human intervertebral disc. *Spine (Phila Pa 1976).*2011;36(22):1835-1842.
- [48] Seol D, Choe H, Ramakrishnan PS, et al. Organ culture stability of the intervertebral disc: rat versus rabbit. *J Orthop Res.*2013;31(6):838-46.
- [49] Risbud MV, Izzo MW, Adams CS, et al. An organ culture system for the study of the nucleus pulposus: description of the system and evaluation of the cells. *Spine (Phila Pa 1976).*2003; 28(24): 2652-2658; discussion 2658-2659.
- [50] 徐宏光,章平治,宋俊兴,等.退变大鼠椎间盘器官培养模型的建立及其意义[J].中国骨与关节外科,2012,5(3):233-237+197.
- [51] 冯敏山,展嘉文,朱立国,等.体外培养条件下脊柱运动节段髓核组织的变化[J].中国组织工程研究,2015,19(51):8241-46.
- [52] Sun YQ, Zheng S, Yu J, et al. Effect of total disc replacement on atypical symptoms associated with cervical spondylosis. *Eur Spine J.*2013;22(7):1553-1557.
- [53] Oguntona SA. Cervical spondylosis in South West Nigerian farmers and female traders. *Ann Afr Med.*2014;13(2):61-64.
- [54] Yoshimura S, Shimosato A, Imanami M, et al. Awake intubation using Pentax-airway scope combined with surface airway anesthesia in the cases of two obese patients with cervical spondylosis and the author himself. *Masui.*2012;61(7): 738-741.
- [55] 宁斌,整修军,胡有谷.慢性压迫性脊髓损伤动物模型的制作方法[J].中国脊柱脊髓杂志,2005,15(5):316-318.
- [56] 陈智,魏显招.脊髓型颈椎病动物模型的研究进展[J].中国矫形外科杂志,2010,18(21):1784-1786.