

· 理论探讨与文献研究 ·

腰椎间盘突出退变动物模型研究进展及其“筋骨并重” 复合因素实验动物模型构建思路

黄帆¹, 吴存书², 张水冰², 赵思怡¹, 范志勇¹, 吴山¹

(1. 广州中医药大学第二临床医学院, 广东广州 510405; 2. 广州中医药大学针灸康复临床医学院, 广东广州 510405)

摘要: 通过分析目前应用较广泛的几种腰椎间盘突出退变动物模型的建模方法及特点, 从“筋骨并重”理论探讨构建具有中医理论特色的腰椎间盘突出退变复合因素实验动物模型。目前腰椎间盘突出退变动物模型主要包括机械损伤模型、应力改变模型、敲除特定基因模型、自发性椎间盘退变模型以及其他模型等。上述动物模型虽然被广泛应用, 但仍存在各种不足, 较难全面模拟临床实际症状。为进一步探索中医药疗法对腰椎间盘突出退变的治疗作用机制, 提出从“筋骨并重”理论出发, 结合腰椎间盘突出退变风险因素诱导建立有效的腰椎间盘突出退变复合因素实验动物模型。

关键词: 腰椎间盘突出退变; 疾病模型, 动物; 筋骨并重; 复合因素

中图分类号: R-332; R274.9

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)03-0607-06

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.03.031

Research Progress of Animal Model of Lumbar Intervertebral Disc Degeneration and Construction of Complicated Lumbar Intervertebral Disc Degeneration Animal Model Based on “Paying Equal Attention to Sinew and Bones”

HUANG Fan¹, WU Cun-Shu², ZHANG Shui-Bing²,
ZHAO Si-Yi¹, FAN Zhi-Yong¹, WU Shan¹

(1. The Second Clinical Medical School, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China;

2. Clinical Medical School of Acupuncture, Moxibustion and Rehabilitation, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: By analyzing the modeling methods and characteristic features of several widely-used animal models of lumbar intervertebral disc degeneration, we discussed the construction of the complex-factor induced animal model of lumbar intervertebral disc degeneration based on the traditional Chinese medicine theory of “paying equal attention to sinew and bones”. Till now, the animal models of lumbar disc degeneration mainly include mechanical injury model, stress-change induced model, specific gene knockout model, spontaneous disc degeneration model and other models. Although the above animal models are widely used, various deficiencies still exist in the present animal model of lumbar intervertebral disc degeneration for they fail in copying the actual clinical symptoms. In order to further explore the therapeutic mechanism of Chinese medicine therapy for the degeneration of intervertebral disc, we explored the feasibility of establishing the complex-factor induced animal model of lumbar intervertebral disc degeneration based on the traditional Chinese medicine theory of “paying equal attention to sinew and bones” and by combining with the risk factors of lumbar intervertebral disc degeneration.

收稿日期: 2020-03-22

作者简介: 黄帆(1997-), 男, 在读第二临床医学院本科生; E-mail: 1095758876@qq.com

通讯作者: 范志勇(1978-), 男, 副主任医师, 硕士研究生导师; E-mail: fzystrong@163.com。吴山(1963-), 男, 主任医师, 博士研究生导师, 博士后合作导师; E-mail: wushan6866@sina.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 81874511); 广东省财政厅项目(编号: 粤财教[2016]387号); 2019年国家级大学生创新创业训练项目(编号: 2019105720014); 2019年省级大学生创新创业训练项目(编号: 201910572073, 201910572080)

Keywords: lumbar intervertebral disc degeneration; disease models, animal; paying equal attention to sinew and bones; complex factors

椎间盘退变(intervertebral degeneration disc, IVDD)是一个因生物力学的磨损或者肌体细胞代谢导致机体衰老而引起的椎间盘组织的力学和结构特性改变的复杂病变过程^[1-2],椎间盘退变是腰椎间盘突出症的根本病理变化。腰椎间盘突出症好发于青壮年,其主要的临床表现如腰痛、坐骨神经痛、马尾综合征等对患者的劳动能力、生活质量可产生严重影响。腰椎间盘突出症的发病人群与症状特点、治疗、相关医疗费用等已引起国内外学者的关注^[3-6]。

中医将腰椎间盘突出症归属为“腰痛”“痉证”“痹证”等范畴,认为其基本病机为“气虚血瘀,本虚标实”^[7]。根据《中医病证诊断疗效标准》^[8],腰椎间盘突出症被分为血瘀证、寒湿证、湿热证、肝肾亏虚证4种。椎间盘属于中医“筋骨”的范畴,中医对于椎间盘退变引起的疾病多从“筋骨并重”的角度进行论治^[9-10],临床常用治疗方法为益气化瘀、补益肝肾等^[11]。中医药治疗腰椎间盘突出症有其独特优势^[12-14],但是目前有关中医药治疗腰椎间盘突出症的研究以临床观察为主,样本量较少,缺乏多中心大样本的随机对照试验研究^[15-16]。为深入研究中医药治疗腰椎间盘突出症的疗效机制,亟需构建病证结合且符合“筋骨并重”理论的椎间盘退变的动物模型,探讨疾病与中医证候相关联的造模方法,以及哪些干预因素会影响病证结合模型的构建等问题^[17]。以下对近年来的椎间盘退变动物模型的研究进展进行综述,并探讨建立有效的“筋骨并重”动物模型。

1 椎间盘退变动物模型研究进展

1.1 机械损伤模型 是指致伤物与被致伤物接触,通过机械运动作用造成机体正常组织的破坏或器官的机能性障碍,从而建立所需的损伤模型。

1.1.1 纤维环损伤模型 纤维损伤大鼠模型由Zhang H等^[18]提出,具体操作如下:在无菌环境中通过吸入麻醉剂异氟醚来诱导和维持大鼠麻醉,触诊后确定椎间盘的水平,在荧光镜下透视定位,确保可视化针头穿透和穿刺针针刺通过髓核

插入背侧环,部分穿过腹侧环;控制进针深度约为皮下5 mm,随后慢慢将穿刺针旋转180°,保持5 s后取出,在术后4、8、12周随机抽取大鼠进行相关影像学和组织学检查。该方法可建立一种新颖、简单、创伤性较小的椎间盘退化动物模型。通过将针头插入大鼠尾椎椎间盘,可诱发椎间盘退变,而不会刺激周围的组成组织^[19]。纤维损伤大鼠模型优点在于简便易行,与人类椎间盘退变具有相同的生化改变,但缺乏对重力因素的考虑,无法完全模拟人类椎间盘缓慢退变的过程。

1.1.2 终板损伤模型 Yuan W等^[20]将大鼠用体积分数为5%盐酸氯胺酮(40 mg/kg)加0.5%地西洋片(2 mg/kg)腹腔注射麻醉,在X射线荧光透视指引下,于距第7与第8腰椎(L7/L8)的椎间盘交界处3 mm的L8椎体上,用连接到血管的1 mL注射器向其椎体骨髓中注入30 μ L无水乙醇。将腰穿刺针放置1 min以使酒精充分扩散,然后将其取出。运用这种方法造模,术后4周即可明显观察到椎间盘退变,与针刺法相比,退变过程所需时间较短。而且无水乙醇注射不会直接破坏终板结构,而是通过破坏终板下方椎体的微循环而起作用,即通过营养供应障碍导致椎间盘变性,避免了椎体终板可能塌陷的缺点^[21]。此方法优点在于通过破坏代谢来制造模型,损伤更小。但此法对注射、穿孔的操作要求较高,终板受损程度难以控制,影响了该方法的可靠性、可控性、可重复性。

1.1.3 髓核损伤模型 Schwan S等^[22]通过经皮背外侧入路建立羊的髓柱损伤模型,用显微手术钻穿刺至椎间盘纤维环(L1/L2和L5/L6),去除羊椎间盘中的髓核组织。术后6周,若组织学和椎间盘造影提示椎间盘结构被破坏和椎间盘高度降低则说明造模成功。此法优点在于创伤小,可保护脊柱其他组织不被破坏,但该方法主要适用于大型动物,缺乏髓核缓慢病变过程。

1.2 应力改变模型 关于应力改变模型, Hirata H等^[23]通过在大鼠的第8至第10尾椎上安装一个体外弹簧压缩装置,从远端对椎间盘施加额外的轴

向力以产生压缩应力。加载56 d后发现大鼠椎间盘内细胞凋亡数目增多,椎间盘高度显著降低,退行性变更加严重。在腰椎间盘突出模型的构建中,应力改变模型被认为是最接近实际的椎间盘退行性变的病理机制。但实验中的体外弹簧具有无法施加多种维度力的局限性,并且由于不能使应力作用及椎间盘退行性变程度标准化,致使其在模型应用中受到了限制^[24]。

1.3 敲除特定基因模型 Millemcamps M等^[25]在研究中使用一种转基因SPARC小鼠品系进行了腰背部疼痛的行为学测量,结果显示老龄SPARC突变鼠出现抓握力障碍、对轴向拉伸的耐性低、后背皮肤对寒冷过敏以及运动活力下降等表现,且随着年龄的增长,小鼠的椎间盘退变的程度逐渐加重。随着分子生物学技术的发展,最新研究发现了细胞衰老和基因组不稳定为椎间盘退变的重要驱动力,基因敲除动物模型为椎间盘退变的潜在机制的研究提供了重要价值^[26-27]。敲除特定基因模型构建腰椎间盘突出症的大鼠模型方法无手术创伤,对实验动物形成了一定保护,但形成的实验动物模型是否能完全模拟腰椎间盘突出症的病因、病程、病理症状等,仍缺乏确切的证据支持。

1.4 自发性椎间盘退变模型 沙鼠具有与年龄有关的自发性腰椎间盘突出,在20世纪80年代的科学文献中被引起关注。沙鼠自发性腰椎间盘突出作为一种经典的自发性椎间盘退变模型,具有重要的研究价值^[28]。Gruber H E等^[29]对2~12个月大的沙鼠进行研究,通过对脊柱的放射学和组织学分析,发现沙鼠和人的腰椎退行性变具有许多共同的特征,包括椎间盘间隙变窄、楔形变、软骨终板钙化,以及椎间盘边缘不规则和细胞凋亡等,这也是老年人椎间盘退变最为常见的过程。沙鼠为自发性椎间盘退变提供了模型支持,但由于沙鼠模型细胞外基质缺乏特异性抗体表达特性,其病变机制还需进一步的实验验证。

1.5 其他模型 有学者通过建立细胞模型来探索椎间盘退变的机制。张坤木等^[30]通过对椎间盘纤维环细胞的培养,观察细胞的演变,以期对椎间盘纤维环的分子生物组织工程研究提供方法,建立体外培养的大鼠椎间盘成纤维细胞模型。通过组织工程得到的实验模型一般可以更好地发挥细胞生物功能从而得到满意的研究结果,但是体外培

养的椎间盘细胞存在分化的趋势,体外培养细胞具有经过多次传代以后可能存在软骨细胞的表型改变等缺点^[31]。此外,冯帅华等^[32]通过采用去卵巢方法建立女性绝经后腰椎间盘突出变的动物模型。这种模型方法的建立为临床进一步研究绝经后妇女腰椎间盘突出变提供了初步的动物模型,但是去卵巢建立椎间盘退变动物模型的研究仍任重道远。

2 基于筋骨并重理论探讨腰椎间盘突出动物模型的构建

2.1 筋骨并重理论溯源 筋骨并重是中医传统思想之一。在隋代巢元方的《诸病源候论》中有“筋骨同治,筋骨并重”理念的记载。“骨”具有支持形体,保护内脏的作用。《素问·痿论》提出“宗筋主束骨而利关节也”,可见“筋”具有连接并约束关节、利关节而主持运动的作用。筋为骨提供了连接与动力,骨为筋提供了附着点和着力点^[33]。筋骨相互协作,共同维持机体的动态平衡,筋骨失衡则会引起包括腰椎间盘突出在内的各种骨功能疾病。

中医认为筋骨之间的相互依存根源在于“肝肾同源”^[34]。骨的生长发育以及修复都有赖于肾之精气的濡养,故肾精足则骨强有力,肾精亏则骨萎软。肝藏血,血养筋,故肝强则筋舒有力,肝虚则筋气不舒,活动迟钝。根据中医肝肾同源的原理,肝藏血,血化精以充养筋骨。年龄增长、房事不节、久病失养、积劳成疾等因素均可致肝肾亏虚,精血生化不足,筋骨失养,从而导致腰椎间盘突出等各种退行性骨病。

2.2 现代医学对筋骨并重理论的认识 中医学中骨的观念与现代解剖学基本一致,中医学中筋的概念则较为宽泛,主要是指具有一定力学性能的纤维组织,其外延涉及肌肉、肌束、肌原纤维、肌丝、肌小节和韧带、关节囊等组织中具有生物力学性能的纤维结构^[35]。一些临床研究表明周围的肌肉力量下降,可导致腰椎不稳定和低位背部疼痛,而核心稳定性练习会增强腰椎的稳定性^[36],该研究结果符合中医“屈伸行动,皆筋为之”的认识。同时现代医学研究表明,肾脏通过调节破骨细胞分化因子,如骨保护素(OPG)和核因子 κ B-配体的受体激活剂(RANKL)来控制骨骼^[37],强肝舒筋的煎剂可以通过肿瘤坏死因子(TNF)- α /核因子

(NF)- κ B途径抑制椎间盘退变^[38],这与中医肝肾同源、筋骨并重的理念相吻合。McPherron A C^[39]等通过敲除特定基因模型对腰椎间盘突出退变的机制进行研究,结果显示肌肉量和骨量与腰椎间盘突出退变有着密切的关系。现代医学实验研究表明,对椎间盘退变动物模型给予补肝肾的方剂治疗后,可通过抑制细胞凋亡、抑制炎症因子的表达、保护细胞外机制等途径来延缓椎间盘退变^[40-42]。可见腰椎间盘突出退变与肝肾有着密切关系。筋骨并重结合现代医学治疗方法已在治疗椎间盘退变的临床实践中取得良好的效果^[43-45]。结合补肝肾复方治疗腰椎间盘突出退变引起的腰椎间盘突出症取得了很好的疗效^[46-48],此为基于“筋骨并重”理论构建腰椎间盘突出退变模型提供了临床依据。

2.3 筋骨并重理论对腰椎间盘突出退变动物模型构建的指导意义 现有的腰椎间盘突出退变动物模型多为单一因素造模,包括机械损伤模型、应力改变模型、敲除特定基因模型、自发性椎间盘退变模型以及其他模型等。其中机械损伤模型是通过直接损伤纤维环、终板、髓核来进行造模,该模型造模过程中的损伤方式较为理想化,但现实生活中出现类似损伤的概率极低,相似性较差。应力改变模型通过给实验动物施加力学负荷造模,忽视了腰椎间盘突出退变患者自身的身体状况的特殊性,且应力作用大小和椎间盘退变程度缺乏统一标准。敲除特定基因模型可模拟增龄型腰椎间盘突出退变,较为适合研究腰椎间盘突出退变的机制,造模相似性较高,但易行性和经济性不足。自发性椎间盘退变模型能够较完整地模拟腰椎间盘突出退变过程,但对实验动物种类的要求较高,现有研究证明仅沙鼠、非软骨营养不良性犬、猪、羊驼等少数动物适宜用作建立腰椎间盘突出退变模型^[49]。基于现有单一因素造模的种种缺陷,本文提出基于“筋骨并重”理论构建复合因素腰椎间盘突出退变模型。

基于“筋骨并重”理论构建腰椎间盘突出退变复合因素模型能够统筹考虑造成腰椎间盘突出退变的内部因素与外部因素,将疾病与中医证候相结合,符合中医的整体观念,与临床病症具有较强的相似性,且具有更高的可行性和经济性,有利于腰椎间盘突出退变的病理机制及药物的干预作用等相关研究的发展。

2.4 基于“筋骨并重”理论构建复合因素模型 中医证候动物模型是在中医整体观念和辨证论治思

想指导下运用藏象学说和病机理论,把人类疾病的某些特征在动物身上模拟复制而成^[50]。张银刚等^[51]通过构建增龄型大鼠椎间盘退变模型,从同等条件下饲养的年龄22个月的大鼠与年龄6个月的大鼠的椎间盘取材并观察其形态组织学改变、Ⅱ型和X型胶原表型表达、Miyamoto分级评分值、椎体软骨终板血管芽数量和相对面积、软骨终板非钙化层/钙化层比值等,结果显示血管芽相对面积、X型胶原表型表达、软骨终板非钙化层及钙化层比值等是评估增龄性椎间盘退变的灵敏指标。而临床通常采用病理学、X线、CT、造影和MRI检查来评价腰椎间盘突出退变水平^[49],常用的分级系统包括Pfarrmann分级和改良的Pfarrmann分级,该类分级方法以髓核结构、髓核与纤维环的分界、髓核的信号强度、椎间盘高度等指标进行分级^[50]。由此可见,实验动物中腰椎间盘突出退变灵敏指标与临床腰椎间盘突出评价标准有所不同。故需要进一步对腰椎间盘突出退变动物模型的评价标准进行探讨。

椎间盘退变患者病因相对复杂,简单地通过单一的西医病因或者危险因素来解释并预测其病程的变化发展是不够客观的。故认为腰椎间盘突出退变动物模型的建立应参考中医复合因素造模的思路,选取临床上常见腰椎间盘突出退变原因进行复合造模,即构建一个基于中医“筋骨并重”理念的腰椎间盘突出退变复合因素动物模型。采用以造成腰椎间盘突出退变的最主要因素作为造模依据的动物模型为基底动物模型,如年龄的增长是引起腰椎间盘突出退变的最主要因素之一,即以增龄型腰椎间盘突出退变大鼠模型为基础,具体造模方法可参考张银刚等^[51]的增龄型椎间盘退变大鼠造模方法,并在基底动物模型上结合中医对腰椎间盘突出退变“筋骨并重”“肝肾同源”的认识构建复合因素动物模型。在“肝肾同源”的中医理论指导下对基底动物模型进行慢性肝肾损伤造模,具体可参考酒精性慢性肝损伤造模法^[52]和气胸致慢性肾衰竭造模法^[53],以破坏其肝肾功能。在“筋骨并重”的中医理论指导下破坏其椎间盘周围的肌肉纤维组织,造成腰肌劳损,具体做法可参考方忆生等^[54]的钝挫伤型骨骼肌损伤造模法,运用钝器垂直打击俯卧位大鼠第5腰椎水平腰肌,解剖和病理观察结果证实腰肌劳损造模成功^[55]。通过椎间盘退变灵敏指标以证实造模是否成功。构建基于“筋骨并重”中医传统理论的、符合临床实际的腰椎间盘突出退变动物

模型,可更好地体现中医的病因病机及其独特的整体观念。

综上所述,基于“筋骨并重”理论成功构建腰椎间盘突出复合因素实验动物模型需同时具备以下两个条件:首先,需要构建一个基于常见致病因素所致的动物模型,如生物力学致腰椎间盘突出、增龄型腰椎间盘突出、营养不良致腰椎间盘突出、细胞凋亡致腰椎间盘突出等,可结合现有常见的机械损伤模型、应力改变模型、敲除特定基因模型、自发性椎间盘退变模型及其他模型实现。其次,需要以中医“筋骨并重”理论为指导,统筹考虑造成疾病的内部因素和外部因素,结合多种造模方法,最大程度地还原临床患者症状表现。除此之外,对腰椎间盘突出动物模型的灵敏性指标还需要进一步深入探索。

参考文献:

- [1] VERGROESEN P P, KINGMA I, EMANUEL K S, et al. Mechanics and biology in intervertebral disc degeneration: a vicious circle [J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015, 23: 1057-1070. DOI: 10.1016/j.joca.2015.03.028.
- [2] MUNIR S, RADE M, MÄÄTTÄ J H, et al. Intervertebral disc biology: genetic basis of disc degeneration [J]. *Curr Mol Biol Rep*, 2018, 4: 143-150. DOI: 10.1007/s40610-018-0101-2.
- [3] MURRAY C J, VOS T, LOZANO R, et al. Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 [J]. *Lancet*, 2012, 380: 2197-2223. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61689-4.
- [4] GORE M, SADOSKY A, STACEY BR, et al. The burden of chronic low back pain: clinical comorbidities, treatment patterns, and health care costs in usual care settings [J]. *Spine*, 2012, 37: E668-E677. DOI: 10.1097/BRS.0b013e318241e5de.
- [5] ZHAO R Z, LIU W Q, XIA T T, et al. Disordered mechanical stress and tissue engineering therapies in intervertebral disc degeneration [J]. *Polymers (Basel)*, 2019, 11(7): 1151. DOI: 10.3390/polym11071151.
- [6] GBD 2017: a fragile world [J]. *Lancet*, 2018, 392: 1683. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)32858-7.
- [7] 王拥军. 中医气血理论与椎间盘退变相关性的研究[A]//中国针灸学会针法灸法分会, 浙江中医学院针灸推拿系, 上海市针灸经络研究所, 上海中医药大学针灸推拿学院, 脊柱病研究所. 全国针法灸法临床与科研学术研讨会暨脊柱病研究新进展论文汇编[C]. 北京: 中国针灸学会, 2005.
- [8] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[S]. 南京: 南京大学出版社, 1994.
- [9] 陈舰舰, 周临东, 谢林. 基于“肝主筋”理论治疗椎间盘退变探讨[J]. *浙江中医药大学学报*, 2013, 37(6): 832-834.
- [10] 陈金辉, 徐莹钧. 《内经》“肾主骨理论”与腰椎间盘突出症的相关探讨[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2016, 16(55): 173.
- [11] 孙江涛. 枳壳甘草汤对大鼠腰椎间盘突出模型炎症及退变的实验研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2016.
- [12] ZHANG B, XU H, WANG J, et al. A narrative review of non-operative treatment, especially traditional Chinese medicine therapy, for lumbar intervertebral disc herniation [J]. *Biosci Trends*, 2017, 11: 406-417. DOI: 10.5582/bst.2017.01199.
- [13] TANG S, MO Z. Acupuncture for lumbar disc herniation: a systematic review and meta-analysis [J]. *Acupunct Med*, 2018, 36: 62-70. DOI: 10.1136/acupmed-2016-011332.
- [14] MO Z, LI D, ZHANG R, et al. Comparisons of the effectiveness and safety of tuina, acupuncture, traction, and Chinese herbs for lumbar disc herniation: a systematic review and network meta-analysis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019: 6821310. DOI: 10.1155/2019/6821310.
- [15] 罗莎, 李军文. 中医治疗腰椎间盘突出症的研究进展[J]. *江苏中医药*, 2017, 49(8): 83-86.
- [16] 董磊. 腰椎间盘突出症MSU分型与益气活血方的疗效观察[D]. 南京: 南京中医药大学, 2019.
- [17] 夏炳江, 童培建. 适宜中医药研究的椎间盘退变动物模型的构建[J]. *中医正骨*, 2016, 28(11): 71-73.
- [18] ZHANG H, LA MARCA F, HOLLISTER S J, et al. Developing consistently reproducible intervertebral disc degeneration at rat caudal spine by using needle puncture [J]. *J Neurosurg Spine*, 2009, 10: 522-530. DOI: 10.3171/2009.2.SPINE08925.
- [19] 吴志强, 周利君, 陈江波, 等. 经皮穿刺纤维环建立大鼠椎间盘源性疼痛模型[J]. *中国组织工程研究*, 2015, 19(18): 2831-2837.
- [20] YUAN W, CHE W, JIANG Y Q, et al. Establishment of intervertebral disc degeneration model induced by ischemic sub-plate in rat tail [J]. *Spine J*, 2015, 15: 1050-1059. DOI: 10.1016/j.spinee.2015.01.026.
- [21] 白荣飞, 张震, 林一峰, 等. 三种方法建立大鼠腰椎间盘突出模型[J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(16): 2514-2519.
- [22] SCHWAN S, LUDTKE C, FRIEDMANN A, et al. Long-term pathology of ovine lumbar spine degeneration following injury via percutaneous minimally invasive partial nucleotomy [J]. *J Orthop Res*, 2019, 37: 2376-2388. DOI: 10.1002/jor.24402.
- [23] HIRATA H, YURUBE T, KAKUTANI K, et al. A rat tail temporary static compression model reproduces different stages of intervertebral disc degeneration with decreased notochordal cell phenotype [J]. *J Orthop Res*, 2014, 32: 455-463. DOI: 10.1002/jor.22533.
- [24] 徐海栋, 刘晓伟, 史新瑞, 等. 大鼠尾椎椎间盘退变静态压力模型的构建[J]. *脊柱外科杂志*, 2017, 15(6): 348-350, 356.
- [25] MILLECAMP S, CZERMINSKI J T, MATHIEU A P. Behavioral signs of axial low back pain and motor impairment correlate with

- the severity of intervertebral disc degeneration in a mouse model [J]. *Spine J*, 2015, 15: 2524–2537. DOI: 10.1016/j.spinee.2015.08.055.
- [26] 张燕, 马嵘. 腰椎间盘突出症动物模型的研究进展[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2017, 33(3): 68.
- [27] VO N V, HARTMAN R A, PATIL P R, et al. Molecular mechanisms of biological aging in intervertebral discs [J]. *J Orthop Res*, 2016, 34: 1289–1306. DOI: 10.1002/jor.23195.
- [28] ADLER J H, SCHOENBAUM M. Early onset of disk degeneration and spondylosis in sand rats (*Psammomys obesus*) [J]. *Vet Pathol*, 1983, 20: 13–22.
- [29] GRUBER H E, PHILLIPS R, INGRAM J A, et al. Spontaneous age-related cervical disc degeneration in the sand rat [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2014, 472: 1936–1942. DOI: 10.1007/s11999-014-3497-x.
- [30] 张坤木, 陈少清, 宋红梅, 等. 大鼠椎间盘纤维环细胞的培养及鉴定[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(11): 1973–1976.
- [31] 潘勇, 周跃, 李长青, 等. 组织工程椎间盘纤维环种子细胞的培养和鉴定[J]. 四川医学, 2009, 30(4): 450–452.
- [32] 冯帅华, 吴官保, 杨屈, 等. 去卵巢致大鼠腰椎间盘退变模型初探[J]. 中国医学创新, 2015, 12(15): 19–22.
- [33] 孙贵香, 郭艳幸, 何清湖, 等. 平乐正骨筋骨互用平衡论: 平乐正骨理论体系之平衡理论研究(二)[J]. 中医正骨, 2012, 24(10): 73–77.
- [34] 王战朝, 马珑, 郭艳锦, 等. 久病虚阻从肝脾肾、气血论治: 郭维淮学术思想摘要[J]. 中医正骨, 2006, 18(12): 53–56.
- [35] 元唯安, 詹红生, 杜国庆. 论“筋主骨从”观念在慢性筋骨病损诊疗中的临床意义[J]. 上海中医药杂志, 2019, 53(9): 12–15.
- [36] ZHANG Y J, TANG S J, CHEN G M, et al. Chinese massage combined with core stability exercises for nonspecific low back pain: a randomized controlled trial [J]. *Complement Ther Med*, 2015, 23(1): 1–6.
- [37] 刘梅洁, 鞠大宏, 赵宏艳, 等. “肾主骨”的机理研究: 左归丸含药血清对破骨细胞分化调控因子OPG、RANKL蛋白表达的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2009, 15(3): 184–188.
- [38] TANG S J. Discussion on the theory of paying equal attention to sinew and bone in China osteosynthesis [J]. *J Acupunct Tuina Sci*, 2015, 13(5): 328–331.
- [39] MCPHERSON A C, LEE S J. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1997, 23: 12457–12461.
- [40] 朱立国, 张平, 宋庆慧, 等. 补肾活血方对沙鼠增龄过程中腰椎软骨终板钙化干预作用的初步研究[J]. 中国骨伤, 2017, 30(10): 926–932.
- [41] 刘仁, 吴官保, 冯帅华, 等. 补肾活血汤对腰椎间盘退变大鼠TNF- α 表达的影响[J]. 湖南中医杂志, 2017, 33(3): 144–145, 156.
- [42] 周桦, 卢建华. 独活寄生汤对椎间盘内紊乱兔模型髓核组织中IL-1 β 及PGE₂的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(2): 665–667.
- [43] 王福, 王锡友, 刘焰刚. “松、正、理”三步法分期治疗腰椎间盘突出症[J]. 现代中医临床, 2018, 25(6): 45–48.
- [44] 尹兰山. “筋、骨、肉”并重的整体思想治疗腰椎间盘突出症疗效分析[A]//中国康复医学会疗养康复专业委员会. 疗养康复发展的机遇与挑战: 中国康复医学会第21届疗养康复学术会议论文汇编[C]. 北京: 中国康复医学会疗养康复专业委员会, 2010.
- [45] 范华雨, 张向东, 赵明宇. 筋滞骨错理论在腰椎间盘突出症中的运用探讨[J]. 风湿病与关节炎, 2019, 8(4): 64–66.
- [46] 沈晓东, 沈双宏. 补肝肾活血方配合推拿治疗腰椎间盘突出症43例临床观察[J]. 中医药学报, 2008, 36(1): 56–57.
- [47] 王志明, 吴俊哲, 杨雄健. 补肾活血方配合理治疗腰椎间盘突出症疗效观察[J]. 陕西中医, 2014, 35(8): 994–996.
- [48] 刘国岩, 徐展望, 郝延科, 等. 补肾活血汤治疗腰椎间盘突出症临床研究[J]. 新中医, 2013, 45(11): 56–58.
- [49] 海宝, 祝斌, 刘晓光. 椎间盘退变动物模型的研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(3): 374–379.
- [50] 殷惠军, 黄焯. 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.
- [51] 张银刚, 刘江涛, 王金堂, 等. 大鼠增龄过程中椎间盘退变指标的研究[J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(2): 169–172.
- [52] LAMAS-PAZ A, HAO F, NELSON L J, et al. Alcoholic liver disease: utility of animal models [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(45): 5063–5075.
- [53] DOLKARTO, KHOURY W, AMARE E, et al. Pneumoperitoneum in the presence of acute and chronic kidney injury: an experimental model in rats [J]. *J Urol*, 2014, 192(4): 1266–1271.
- [54] 方忆生, 陈少清, 连晓阳, 等. 电针委中穴对腰肌钝挫伤大鼠骨骼肌中TNF- α 及IGF-1表达的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2016, 31(2): 201–204.
- [55] WANG R, LUO D, XIAO C, et al. The time course effects of electroacupuncture on promoting skeletal muscle regeneration and inhibiting excessive fibrosis after contusion in rabbits [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 869398.

【责任编辑: 贺小英】