

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.003281

瑞芬太尼对椎间盘退变模型大鼠椎间盘的影响及机制

廖 瑶, 涂 婷, 曾惜羽, 陈秋红, 袁瑶芪

(西南医科大学附属中医医院疼痛科, 泸州 646000)

【摘要】目的:观察瑞芬太尼对椎间盘退变(intervertebral disc degeneration, IDD)模型大鼠椎间盘的保护作用,并探讨其作用机制。**方法:**将 40 只健康 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组和瑞芬太尼低、中、高剂量组,每组 8 只;采用针刺纤维环法构建 IDD 模型;瑞芬太尼低、中、高剂量组于造模后以 0.2、0.6、1.2 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 经大鼠尾静脉泵注瑞芬太尼 30 min,模型组和假手术组给予等量生理盐水泵注。采用苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色观察椎间盘组织病理变化;酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)水平;Western blot 检测椎间盘组织过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor-1 α , PGC-1 α)、线粒体转录因子(mitochondrial transcription factor A, TFAM)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 1(cysteine aspartic protease-1, Caspase-1)、消素 D(gasdermin D, GSDMD)、NOD 样受体热蛋白结构域 3(NOD-like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3)、缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF-1 α)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)蛋白表达。**结果:**与假手术组比较,模型组大鼠髓核缩小,纤维环排列紊乱,髓核细胞数量减少;血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平升高($P<0.05$);椎间盘组织 PGC-1 α 、TFAM 蛋白表达水平降低, Caspase-1、GSDMD、NLRP3、HIF-1 α 、VEGF 蛋白表达水平增加($P<0.05$)。与模型组比较,瑞芬太尼中、高剂量组纤维环排列紊乱明显改善,髓核细胞数量明显增多;血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平降低($P<0.05$);椎间盘组织 PGC-1 α 、TFAM 蛋白表达水平增加, Caspase-1、GSDMD、NLRP3、HIF-1 α 、VEGF 蛋白表达水平降低($P<0.05$)。**结论:**瑞芬太尼可改善 IDD 模型大鼠椎间盘退变,其机制与抑制椎间盘炎症反应、细胞焦亡,调控 HIF-1 α /VEGF 信号通路有关。

【关键词】椎间盘退变;瑞芬太尼;炎症;细胞焦亡;缺氧诱导因子-1 α ;血管内皮生长因子

【中图分类号】R332

【文献标志码】A

【收稿日期】2022-06-22

Effect of remifentanyl on the intervertebral disc of rats with intervertebral disc degeneration and its mechanism

Liao Yao, Tu Ting, Zeng Xiyu, Chen QiuHong, Yuan Yaoqi

(Department of Pain Treatment, Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to Southwest Medical University)

【Abstract】Objective: To observe the protective effect of remifentanyl on intervertebral disc of rats with intervertebral disc degeneration (IDD), and to explore its mechanism of action. **Methods:** A total of 40 healthy SD rats were randomly divided into sham-operation group, model group, low-dose, middle-dose and high-dose remifentanyl groups, 8 cases in each group. IDD models were constructed by fibrous annulus puncturing. After modeling, low-dose, medium-dose and high-dose remifentanyl groups were given intravenous injection of remifentanyl through tail vein at rates of 0.2, 0.6 and 1.2 $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ for 30 minutes, while model group and sham operation group were given the same volume of normal saline. The pathological changes of intervertebral disc tissues were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. The levels of serum tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin 6 (IL-10) and interleukin 1 β (IL-1 β) were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The expressions of peroxisome proliferator-activated receptor-1 α (PGC-1 α), mitochondrial transcription factor A (TFAM), cysteine aspartic protease-1 (Caspase-1), gasdermin D (GSDMD), NOD-like receptor family pyrin domain containing 3 (NLRP3), hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in intervertebral disc tissues were detected by Western blot. **Results:** Compared with sham operation group, nucleus pulposus was shrunk, arrangement of fibrous annulus was disordered and the number of nucleus pulposus cells was decreased in model group. The levels of serum TNF- α , IL-6 and IL-1 β were increased

作者介绍:廖 瑶, Email: liaoyao202110@163.com,

研究方向:疼痛机制与治疗研究。

基金项目:四川省科技厅重点研发资助项目(编号:2019SZ0127)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms2/detail/50.1046.R.20230717.1547.034.html>
(2023-07-18)

($P<0.05$). The expression levels of PGC-1 α and TFAM in intervertebral disc tissues were decreased, and expression levels of Caspase-1, GSDMD, NLRP3, HIF-1 α and VEGF were increased ($P<0.05$). Compared with model group, disorders of fibrous annulus were significantly improved in medium-dose and high-dose remifentanyl groups, and number of nucleus pulposus cells was significantly increased. The levels of serum TNF- α , IL-6 and IL-1 β were decreased ($P<0.05$). The expression levels of PGC-1 α and TFAM in intervertebral disc tissues were increased, and expression levels of Caspase-1, GSDMD, NLRP3, HIF-1 α and VEGF were decreased ($P<0.05$). **Conclusion:** Remifentanyl can improve IDD in rats, and its mechanism is related to inhibiting inflammatory response and pyroptosis of intervertebral disc, and regulating HIF-1 α /VEGF signaling pathways.

[Key words] intervertebral disc degeneration; remifentanyl; inflammation; pyroptosis; hypoxia-inducible factor 1 α ; vascular endothelial growth factor

椎间盘退变 (intervertebral disc degeneration, IDD) 是发生于椎间盘的一种与年龄相关的慢性退行性病变过程, 是导致运动功能障碍和下腰痛的主要原因之一, 其病理表现为髓核 (nucleus pulposus, NP) 中的蛋白多糖和水分含量下降, 椎间盘抵抗压缩载荷能力下降^[1-2]。目前 IDD 的临床治疗主要以缓解症状为主, 仍缺乏有效的治疗手段, 因此迫切需要开发新的治疗方法。近年来研究显示, 缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF-1 α) / 血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 信号通路参与了 IDD 病理过程^[3]。VEGF 是 HIF-1 α 的靶基因, 可促进血管生成和血管侵袭, 在有血管新生迹象的椎间盘突出和退行性椎间盘中均有高表达^[4]。瑞芬太尼是临床广泛应用的麻醉剂, 据报道能通过抑制炎症反应及细胞凋亡对肝缺血再灌注损伤具有保护作用^[5]。此外, 研究发现瑞芬太尼能通过调控 HIF-1 α 表达改善心脏微血管内皮细胞功能障碍^[6]。瑞芬太尼对 IDD 是否具有保护作用尚不清楚。本研究旨在探讨瑞芬太尼对 IDD 模型大鼠的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 健康雄性 SD 大鼠 40 只, 体质量 (250 \pm 20) g, 购于西南医科大学, 动物许可证号 SCXK (川) 2018-17。

1.1.2 实验试剂 瑞芬太尼 (Sigma 公司), 兔抗鼠 HIF-1 α (货号 ab113642, Abcam 公司), VEGF (货号 ab214424, Abcam 公司), PGC-1 α (#2178), TFAM (#8076), Caspase-1 (#24232), GSDMD (#50928), NLRP3 (#15101) 均购自美国 CST 公司, GAPDH 抗体 (60004-1-Ig, 武汉三鹰生物技术有限公司), HRP 标记的羊抗兔 IgG 二抗 (SE131, 北京索莱宝科技有限公

司), 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) ELISA 检测试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司), Mini-Protein 聚丙烯酰胺凝胶电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司), MK3 型酶标免疫分析仪 (Biotek 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 动物模型制备与分组 将 40 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组以及瑞芬太尼低、中、高剂量组, 每组 8 只。大鼠 IDD 模型建立采用针刺纤维环法^[7]: 将大鼠以 30 mg/kg 戊巴比妥腹腔内注射麻醉, 右腹部及腰背部备皮、清洁, 碘伏消毒, 铺巾。于右腹后外侧作纵切口, 依次切开皮肤及皮下组织, 经腹膜外入路暴露 L5/6 椎间盘和终板, 使用 21G 穿刺针经纤维环前外侧以平行终板方向进针, 控制刺入深度约 2.3 mm, 停留 10 s 后拔除穿刺针, 逐层缝合切口。假手术组术中不进行穿刺操作, 术后直接逐层缝合切口。IDD 模型建立 24 h 后, 瑞芬太尼低、中、高剂量组静脉输注 0.2、0.6、1.2 μ g/(kg \cdot min) 瑞芬太尼, 持续 30 min^[8], 假手术组和模型组同时给予等量生理盐水输注。治疗结束后经眼眶静脉丛采血, 处死大鼠并小心切取 L5/6 椎间盘组织。

1.2.2 大鼠椎间盘组织 HE 染色 将大鼠椎间盘组织使用 10% 中性甲醛溶液浸泡 24 h 后, 依次采用标准梯度乙醇脱水、二甲苯清除、石蜡浸泡、石蜡包埋、5 μ m 连续切片, 然后将切片置于 80 $^{\circ}$ C 烤片 1 h。冷却后, 将切片采用二甲苯脱蜡、乙醇梯度脱水后, 依次采用苏木精和伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色, 最后中性树胶封片。在光学显微镜下观察肺组织病理改变。

1.2.3 ELISA 法检测大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平 将采集的血样离心后取上清液, 使用 ELISA 法检测样本中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平, 均严格按照相应试剂盒说明操作, 最后使用酶标仪测定 450 nm 处吸光度值, 并根据绘制的标准曲线计算各样品中待测指标含量水平。

1.2.4 Western blot 检测大鼠椎间盘组织相关蛋白表达 取 100 mg 椎间盘组织, 加入 1 mL IP 细胞裂解液并加入终浓度为 1 mol/L 的 PMSF 液至匀浆器中, 冰缸上充分匀浆, 离心后收集上清液。BCA 法定量提取的组织蛋白, 取 40 μ g 样品蛋

白经 SDS-PAGE 电泳转印至 PVDF 膜,然后以 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h 后,以 GAPDH 为内参,分别加入 PGC-1 α 、TFAM、Caspase-1、GSDMD、NLRP3、HIF-1 α 、VEGF 一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,TBST 洗膜 3 次;最后加入二抗室温下孵育 2 h,ECL 法显色,采用 Image J 软件分析蛋白条带灰度值。

1.3 统计学处理

使用 SPSS 20.0 软件统计分析数据。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较使用单因素方差分析,进一步两两比较采取 SNK 法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 瑞芬太尼对 IDD 大鼠椎间盘组织病理损伤的影响

HE 染色后光镜下假手术组大鼠髓核组织完整,纤维环排列整齐,髓核细胞和间质细胞数量无明显减少;而模型组大鼠髓核缩小,纤维环排列紊乱,髓核细胞数量减少;中、高剂量瑞芬太尼处理后,纤维环排列紊乱明显改善,髓核细胞数量明显增多(图 1)。

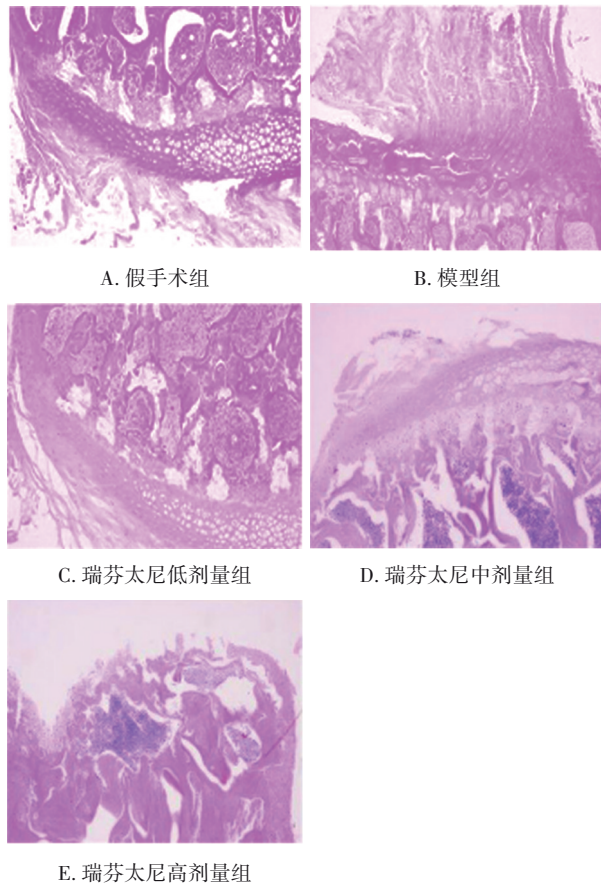


图 1 各组大鼠椎间盘组织病理改变(HE, 200 \times)

2.2 瑞芬太尼对 IDD 大鼠外周血 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平的影响

与假手术组比较,模型组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6

水平均升高($P<0.05$);与模型组比较,瑞芬太尼中、高剂量组血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平均降低($P<0.05$)。中高剂量瑞芬太尼能明显抑制 IDD 模型大鼠炎症细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达(表 1)。

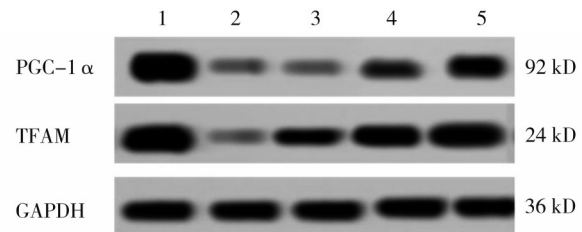
表 1 各组大鼠外周血 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平比较
($n=8, \bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

分组	TNF- α	IL-1 β	IL-6
假手术组	32.31 \pm 6.20	15.89 \pm 5.07	16.65 \pm 4.10
模型组	84.35 \pm 9.02 ^a	34.68 \pm 7.59 ^a	37.52 \pm 7.20 ^a
瑞芬太尼低剂量组	77.65 \pm 6.25	31.91 \pm 3.13	34.75 \pm 3.05
瑞芬太尼中剂量组	56.65 \pm 8.50 ^b	24.02 \pm 5.75 ^b	27.70 \pm 6.90 ^b
瑞芬太尼高剂量组	44.10 \pm 7.15 ^b	19.64 \pm 5.04 ^b	21.53 \pm 4.54 ^b

注:a,与假手术组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$

2.3 瑞芬太尼对 IDD 大鼠线粒体功能的影响

与假手术组比较,模型组大鼠椎间盘组织 PGC-1 α 、TFAM 蛋白表达水平均降低($P<0.05$);与模型组比较,瑞芬太尼中、高剂量组大鼠椎间盘组织 PGC-1 α 、TFAM 蛋白表达水平均升高($P<0.05$)。中高剂量瑞芬太尼能明显促进 IDD 模型大鼠椎间盘组织 PGC-1 α 、TFAM 蛋白表达(图 2、表 2)。



注:1 指代假手术组;2 指代模型组;3 指代瑞芬太尼低剂量组;4 指代瑞芬太尼中剂量组;5 指代瑞芬太尼高剂量组

图 2 各组大鼠椎间盘组织 PGC-1 α 、TFAM 蛋白表达

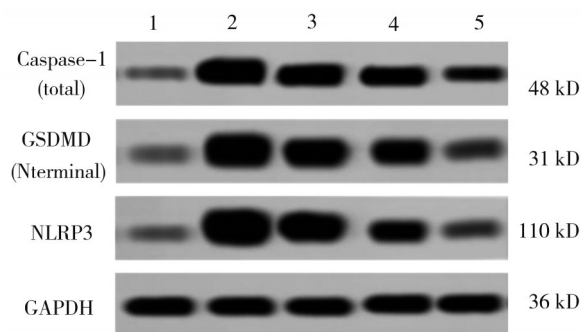
表 2 各组大鼠椎间盘组织 PGC-1 α 、TFAM 蛋白表达比较
($n=8, \bar{x} \pm s$)

分组	PGC-1 α	TFAM
假手术组	1.26 \pm 0.17	1.20 \pm 0.11
模型组	0.59 \pm 0.19 ^a	0.49 \pm 0.06 ^a
瑞芬太尼低剂量组	0.62 \pm 0.14	0.57 \pm 0.14
瑞芬太尼中剂量组	0.87 \pm 0.17 ^b	0.84 \pm 0.19 ^b
瑞芬太尼高剂量组	1.03 \pm 0.22 ^b	1.06 \pm 0.17 ^b

注:a,与假手术组比较, $P<0.05$;b:与模型组比较, $P<0.05$

2.4 瑞芬太尼对 IDD 大鼠椎间盘组织细胞焦亡的影响

与假手术组比较,模型组大鼠椎间盘组织 Caspase-1、GSDMD 及 NLRP3 蛋白表达水平均升高($P<0.05$);与模型组比较,瑞芬太尼中、高剂量组大鼠椎间盘组织 Caspase-1、GSDMD 及 NLRP3 蛋白表达水平均降低($P<0.05$)。中高剂量瑞芬太尼能明显抑制 IDD 模型大鼠椎间盘组织 Caspase-1、GSDMD 及 NLRP3 蛋白表达(图 3、表 3)。



注:1 指代假手术组;2 指代模型组;3 指代瑞芬太尼低剂量组;4 指代瑞芬太尼中剂量组;5 指代瑞芬太尼高剂量组

图3 各组大鼠椎间盘组织 Caspase-1、GSDMD 及 NLRP3 蛋白表达

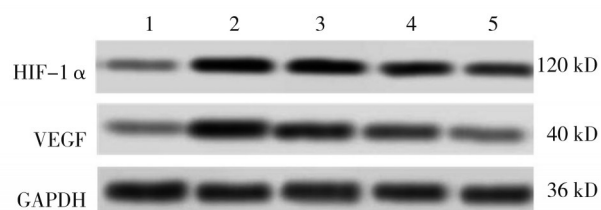
表3 各组椎间盘组织 Caspase-1、GSDMD 及 NLRP3 蛋白表达比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

分组	Caspase-1	GSDMD	NLRP3
假手术组	0.63 ± 0.11	0.63 ± 0.13	0.70 ± 0.34
模型组	1.14 ± 0.23 ^a	1.37 ± 0.14 ^a	1.61 ± 0.27 ^a
瑞芬太尼低剂量组	1.05 ± 0.18	1.23 ± 0.15	1.33 ± 0.17
瑞芬太尼中剂量组	0.87 ± 0.13 ^b	0.91 ± 0.11 ^b	1.12 ± 0.17 ^b
瑞芬太尼高剂量组	0.81 ± 0.12 ^b	0.85 ± 0.10 ^b	0.94 ± 0.16 ^b

注:a, 与假手术组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$

2.5 瑞芬太尼对IDD大鼠HIF-1 α /VEGF信号通路的影响

与假手术组比较, 模型组大鼠椎间盘组织HIF-1 α 、VEGF蛋白表达水平平均升高($P<0.05$); 与模型组比较, 瑞芬太尼中、高剂量组大鼠椎间盘组织HIF-1 α 、VEGF蛋白表达水平平均降低($P<0.05$)。中高剂量瑞芬太尼能明显抑制IDD模型大鼠椎间盘组织HIF-1 α 、VEGF蛋白表达(图4、表4)。



注:1 指代假手术组;2 指代模型组;3 指代瑞芬太尼低剂量组;4 指代瑞芬太尼中剂量组;5 指代瑞芬太尼高剂量组

图4 各组大鼠椎间盘组织 HIF-1 α 、VEGF 蛋白表达

表4 各组大鼠椎间盘组织 HIF-1 α 、VEGF 蛋白表达比较 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

分组	HIF-1 α	VEGF
假手术组	0.33 ± 0.09	0.44 ± 0.18
模型组	1.70 ± 0.38 ^a	1.55 ± 0.22 ^a
瑞芬太尼低剂量组	1.57 ± 0.27	1.32 ± 0.41
瑞芬太尼中剂量组	1.16 ± 0.14 ^b	1.05 ± 0.42 ^b
瑞芬太尼高剂量组	0.84 ± 0.30 ^b	0.84 ± 0.26 ^b

注:a, 与假手术组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$

3 讨论

IDD 导致脊柱运动节段不稳、狭窄、畸形, 引起腰痛和运动功能障碍等症状, 极大地威胁公众身体健康^[9]。尽管如此, IDD 的分子机制尚未完全阐明。本研究采用针刺纤维环法构建大鼠 IDD 模型, 实验中椎间盘组织的 HE 染色显示模型组大鼠髓核缩小, 纤维环排列紊乱, 髓核细胞数量减少, 符合 IDD 的病理改变^[10]。瑞芬太尼为 μ 阿片受体激动剂, 作为麻醉镇痛剂被广泛应用于临床。据报道, 瑞芬太尼在肾脏缺血再灌注损伤模型中显示出抗炎作用^[11]。本研究结果显示, 使用中、高剂量瑞芬太尼处理 IDD 大鼠明显改善了椎间盘组织病理损伤和炎症反应。

炎症是 IDD 病理改变中的主要特征之一。目前研究显示, 细胞因子诱导是椎间盘退行性变的重要危险因素, 其中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 作为主要炎症细胞因子参与椎间盘退行性变, 可引发炎症增强、代谢紊乱和加速髓核细胞死亡^[12]。相关研究中, 抑制 TNF- α 功能可改善椎间盘的退化。细胞器功能异常, 特别是线粒体功能异常与椎间盘变性密切相关。在 IDD 致病机制中, 炎症与细胞器功能密切相关。有研究证实, TNF- α 刺激可导致线粒体功能障碍^[13]。此外, 报道显示衰老髓核细胞线粒体形态出现异常和功能障碍, 同时伴有明显的炎症反应^[14]。本研究中模型组大鼠炎症细胞因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平明显升高, 同时 Western blot 检测到模型组大鼠线粒体功能相关蛋白 PGC-1 α 、TFAM 表达水平下降, 提示 IDD 模型大鼠髓核组织细胞线粒体功能障碍, 与既往报道相一致, 而使用中、高剂量瑞芬太尼处理 IDD 大鼠明显改善了炎症反应和线粒体功能障碍。

髓核细胞数量减少是椎间盘退变的主要病理机制之一。焦亡是最近发现的促炎性程序性死亡模式, 其被发现参与髓核细胞减少机制^[15]。NLRP3 炎性小体和下游相关信号通路的激活被认为是焦亡的关键过程。NLRP3 炎性小体由受体蛋白 NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白和效应分子 Caspase-1 前体形成高分子量蛋白复合体^[16]。此外, NLRP3 炎性小体激活后, Gasdermin-N 结构域被裂解为 N 端 GSDMD 激活状态, 刺破细胞膜, 引起细胞裂解, 释

放炎症因子 IL-1 β 。本研究结果表明,模型组大鼠椎间盘组织 Caspase-1、GSDMD 及 NLRP3 蛋白表达水平平均升高,提示细胞焦亡增加。而使用中、高剂量瑞芬太尼处理 IDD 大鼠明显改善了炎症反应和线粒体功能障碍。

不受控制和不成熟的血管生成是包括 IDD 在内的多种疾病的致病原因。研究表明,HIF-1 α /VEGF 信号通路直接参与了血管生成的整个过程^[3]。VEGF 是 HIF-1 α 的靶基因,可促进血管生成和血管侵袭,在有血管新生迹象的椎间盘突出和退行性椎间盘中均有高表达。研究发现,VEGF 基因可能增加椎间盘变性的易感性;此外,VEGF 表达水平与椎间盘退行性变的严重程度呈正相关^[17]。相关研究认为,VEGF 可能与 p53 基因联合作用促进 IDD。本研究结果表明,模型组大鼠椎间盘组织 HIF-1 α 、VEGF 蛋白表达水平平均升高,提示 HIF-1 α /VEGF 信号通路被激活。而使用中、高剂量瑞芬太尼处理 IDD 大鼠明显抑制 HIF-1 α /VEGF 信号通路的激活。

综上所述,瑞芬太尼可改善 IDD 大鼠椎间盘退变,其机制与抑制椎间盘炎症反应、细胞焦亡,调控 HIF-1 α /VEGF 信号通路有关。

参 考 文 献

- [1] 张培根,张 文,解 迪,等. MMP-13、BMP-2 及 P16 在退变腰
椎间盘髓核中的表达及临床意义[J]. 分子诊断与治疗杂志,2021,13
(8):1297-1300.
- [2] Zhang PG, Zhang W, Xie D, et al. The expression and clinical signifi-
cance of MMP-13, BMP-2 and P16 in nucleus pulposus of degenerative
lumbar intervertebral disc[J]. J Mol Diagn Ther, 2021, 13(8): 1297-
1300.
- [3] Kos N, Gradisnik L, Velmar T. A brief review of the degenerative
intervertebral disc disease[J]. Med Arch, 2019, 73(6): 421-424.
- [4] Li YJ, Liu S, Pan DY, et al. The potential role and trend of HIF-1 α
in intervertebral disc degeneration: friend or foe? [J]. Mol Med Rep,
2021, 23(4): 239.
- [5] Wu WJ, Zhang XK, Zheng XF, et al. SHH-dependent knockout of
HIF-1 α accelerates the degenerative process in mouse interverte-
bral disc[J]. Int J Immunopathol Pharmacol, 2013, 26(3): 601-609.
- [6] Yang LQ, Tao KM, Liu YT, et al. Remifentanyl preconditioning re-
duces hepatic ischemia-reperfusion injury in rats via inducible nitric ox-
ide synthase expression[J]. Anesthesiology, 2011, 114(5): 1036-1047.
- [7] Li XJ, Gui ZP, Liu HZ, et al. Remifentanyl pretreatment amelio-
rates H/R-induced cardiac microvascular endothelial cell dysfunction
by regulating the PI3K/Akt/HIF-1 α signaling pathway[J]. Bioengi-
neered, 2021, 12(1): 7872-7881.
- [8] Zhang B, Zhao Q, Li YS, et al. Moxibustion alleviates interverte-
bral disc degeneration via activation of the HIF-1 α /VEGF pathway in a
rat model[J]. Am J Transl Res, 2019, 11(9): 6221-6231.
- [9] 刘 宇,李 耀,万永灵. 瑞芬太尼对内毒素诱导的急性肺损伤
大鼠氧自由基、炎症因子及肺纤维化的影响[J]. 中国免疫学杂志,
2020,36(9):1086-1090.
- [10] Liu Y, Li Y, Wan YL. Effects of remifentanyl on oxygen radicals, inflam-
matory factors and lung fibrosis in endotoxin induced rats with acute
lung injury[J]. Chin J Immunol, 2020, 36(9): 1086-1090.
- [11] 李若禹,丁文元. 磁共振影像标志物对椎间盘退变及盘源性下
腰痛诊断的研究进展[J]. 中华骨科杂志, 2020, 40(13): 880-888.
- [12] 赵 赫,高誉珊,胡振国,等. 补肾壮筋汤对腰间盘退变大鼠
椎间盘及行为学特征影响的实验研究[J]. 中医正骨, 2017, 29(7):
12-20, 26.
- [13] Zhao H, Gao YS, Hu ZG, et al. Effect of Bushen Zhuangjin Tang on in-
tervertebral disc and behavioral characteristics of rats with lumbar in-
tervertebral disc degeneration[J]. J Tradit Chin Orthop Traumatol, 2017, 29
(7): 12-20, 26.
- [14] 孔二亮,陈 默,拜云虎,等. 瑞芬太尼通过激活 PI3K/Akt/
eNOS 通路减轻肾缺血/再灌注损伤[J]. 第二军医大学学报, 2019, 40
(12): 1337-1343.
- [15] Kong EL, Chen M, Bai YH, et al. Remifentanyl alleviates renal ischemia/
reperfusion injury by activating PI3K/Akt/eNOS pathway[J]. Acad J Sec-
ond Mil Med Univ, 2019, 40(12): 1337-1343.
- [16] Zhang GZ, Deng YJ, Xie QQ, et al. Sirtuins and intervertebral
disc degeneration: roles in inflammation, oxidative stress, and mitochon-
drial function[J]. Clin Chim Acta, 2020, 508: 33-42.
- [17] Zhao YP, Qiu C, Wang WH, et al. Cortistatin protects against in-
tervertebral disc degeneration through targeting mitochondrial ROS-
dependent NLRP3 inflammasome activation[J]. Theranostics, 2020, 10
(15): 7015-7033.
- [18] Xu XL, Wang D, Zheng C, et al. Progerin accumulation in
nucleus pulposus cells impairs mitochondrial function and induces in-
tervertebral disc degeneration and therapeutic effects of sulforaphane[J].
Theranostics, 2019, 9(8): 2252-2267.
- [19] Zhang JW, Zhang JY, Zhang YL, et al. Mesenchymal stem cells-
derived exosomes ameliorate intervertebral disc degeneration through in-
hibiting pyroptosis[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(20): 11742-11754.
- [20] Mridha AR, Wree A, Robertson AAB, et al. NLRP3 inflamma-
some blockade reduces liver inflammation and fibrosis in experimental
NASH in mice[J]. J Hepatol, 2017, 66(5): 1037-1046.
- [21] Binch AL, Cole AA, Breakwell LM, et al. Expression and regula-
tion of neurotrophic and angiogenic factors during human intervertebral
disc degeneration[J]. Arthritis Res Ther, 2014, 16(5): 416.

(责任编辑:周一青)