

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cxb.003468

建立腰椎动静力不稳山羊模型用于椎间盘退变研究

陈致介¹,周志¹,田子扬¹,王震炜²,李展春¹

(上海交通大学医学院附属仁济医院 1. 骨科;2. 检验科,上海 200127)

【摘要】目的:建立有应用价值的腰椎动静力不稳的山羊模型,模拟人体局部因素的影响和病理生理的应力负荷对椎间盘退变(intervertebral disc degeneration,IVDD)的作用。**方法:**通过腰椎动静力不稳手术(lumbar dynamic and static instability,LDSI)破坏山羊脊柱的后柱结构,包括离断竖脊肌、背阔肌、腰最长肌、棘肌等破坏腰椎动态力学稳定,离断腰椎棘突、棘上韧带、棘间韧带等破坏腰椎静态力学稳定,使腰椎产生动态力和静态力的失衡,造成脊柱后柱稳定性的丧失。以生物力学稳定性为突破点,而不破坏椎间盘结构的完整性,建立腰椎动静力不稳的山羊模型,并通过52周的术后随访,利用腰椎X线片、磁共振以及组织病理学变化等技术评估山羊的椎间盘高度指数(disc height index,DHI),Pfirrmann MRI分级和Masuda组织学评分等。**结果:**LDSI组山羊腰椎的DHI在术前0周(0.184 ± 0.015),术后26周(0.105 ± 0.006)和术后52周(0.075 ± 0.007)存在差异(0周 vs. 26周, $P < 0.05$; 26周 vs. 52周, $P < 0.05$)。LDSI组山羊腰椎的Pfirrmann分级在术前0周(1.167 ± 0.408),术后26周(2.333 ± 0.516)和术后52周(3.667 ± 0.817)存在差异(0周 vs. 26周, $P < 0.05$; 26周 vs. 52周, $P < 0.05$)。LDSI组山羊腰椎的Masuda组织学评分在术前0周(3.500 ± 0.577),术后26周(6.250 ± 0.957)和术后52周(8.000 ± 0.816)存在差异(0周 vs. 26周, $P < 0.05$; 26周 vs. 52周, $P < 0.05$)。**结论:**LDSI能够造成山羊椎间盘高度降低、终板边界模糊和含水量降低,在不破坏椎间盘结构完整的基础上模拟了人体长期反复劳损而导致的IVDD,更符合人体实际,有助于其发病机制的研究。

【关键词】椎间盘退变;山羊模型;腰椎动静力不稳

【中图分类号】R681.5

【文献标志码】A

【收稿日期】2024-02-18

Establishment of a goat model of lumbar static and dynamic instability for the research on intervertebral disc degeneration

Chen Zhijie¹, Zhou Zhi¹, Tian Ziyang¹, Wang Zhenwei², Li Zhanhun¹

(1. Department of Orthopedic Surgery, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine;

2. Department of Laboratory Medicine, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine)

【Abstract】**Objective:** To establish a practical large animal model of intervertebral disc degeneration (IVDD) for the simulation of the influence of local factors in the human body and the role of pathophysiological stress load on IVDD. **Methods:** In this study, lumbar dynamic and static instability (LDSI) surgery was performed to damage the posterior column structure of the goat spine; the muscles including erector spinae, latissimus dorsi, longissimus lumborum, and spinalis were ligated to destroy the dynamic stability of the lumbar spine, and the spinous process, supraspinous ligament, and interspinous ligament were ligated to destroy the static stability of the lumbar spine, resulting in the imbalance of dynamic and static forces of the lumbar spine and the loss of the stability of the posterior column. With biomechanical stability as the breakthrough point, a goat model of lumbar dynamic and static instability was established without destroying the structural integrity of the intervertebral disc, and during 52 weeks of postoperative follow-up, lumbar spine X-ray, magnetic resonance imaging (MRI), and histopathological changes were used to evaluate disc height index (DHI), Pfirrmann MRI grade, and Masuda histological score. **Results:** In the LDSI group, the DHI of goat lumbar spine was 0.184 ± 0.015 at week 0 before surgery, 0.105 ± 0.006 at 26 weeks after surgery, and 0.075 ± 0.007 at 52 weeks after surgery (0 week vs. 26 weeks: $P < 0.05$; 26 weeks vs. 52 weeks: $P < 0.05$). In the LDSI group, the Pfirrmann grade of goat lumbar spine was 1.167 ± 0.408 at week 0 before sur-

作者介绍:陈致介,Email:wzmucj922@163.com,

研究方向:椎间盘退变。

通信作者:李展春,Email:kcb069@163.com。

基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(编号:8187109);上海市科学技术委员会“科技创新行动计划”实验动物研究领域资助项目(编号:21140904600);上海市卫生健康委员会面上资助项目(编号:202340081)。

优先出版:<https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20240418.1458.016>
(2024-04-22)

gery, 2.333 ± 0.516 at 26 weeks after surgery, and 3.667 ± 0.817 at 52 weeks after surgery (0 week vs. 26 weeks: $P < 0.05$; 26 weeks vs. 52 weeks: $P < 0.05$). In the LDSI group, the Masuda histological score of goat lumbar spine was 3.500 ± 0.577 at week 0 before surgery, 6.250 ± 0.957 at 26 weeks after surgery, and 8.000 ± 0.816 at 52 weeks after surgery (0 week vs. 26 weeks: $P < 0.05$; 26 weeks vs. 52 weeks: $P < 0.05$). **Conclusion:** LDSI can cause the reduction in the height of the intervertebral disc, the blurring of endplate boundary, and the reduction in water content in goats. It simulates the process of IVDD caused by long-term repeated strain of human body without destroying the structural integrity of the intervertebral disc, which is more in line with the real condition of human body and may provide help for research on the pathogenesis of IVDD.

【Key words】 intervertebral disc degeneration; goat model; lumbar static and dynamic instability

椎间盘退变 (intervertebral disc degeneration, IVDD) 是指在一系列复杂的分子机制和机械应力作用下的 IVD 衰老和损伤, 可导致腰痛、神经受压甚至残疾^[1-2]。随着全球人口老龄化加重, IVDD 患者急剧增多, 严重者通常需要手术治疗, 并且手术治疗可能会加剧邻近健康椎间盘的退变, 已在世界范围内造成了巨大的社会经济负担^[3-5]。然而, 少见合适的动物模型和造模方式能较真实地模拟人体局部因素的影响和病理生理的应力负荷对 IVDD 的作用^[6-7]。因此, 有必要探索能模拟人类长期反复劳损而自然诱发 IVDD 的理想实验动物模型用于其机制与治疗的研究。

山羊来源充足, 寿命较长而可供长期研究, 性格温顺而容易圈养, 拥有与人类脊柱相似的尺寸与构造, 能获取大量血、尿以及骨标本^[8-9]。成年山羊的脊索细胞基本消失, 其髓核的蛋白多糖含量和整个 IVD 的力学结构与人类相似^[10]。山羊 IVD 的厚度、高度、前后径、纤维环的水分含量、胶原含量和胶原纤维的取向角度等与人体 IVD 结构均相似^[11-12], 可以较真实反映人体 IVDD 的客观规律, 较全面模拟人体 IVDD 的病理过程, 是一种贴近临床、经济实用的用于 IVDD 研究的理想动物模型。

当前, 在大型和小型动物模型中都采用了多种诱导 IVDD 的方法, 包括化学溶核(以酶促诱导髓核降解)、髓核抽吸、纤维环损伤(撕裂或针刺)或改变机械负荷^[13-17]。但目前尚无具有可操作性强、可靠性好、可重复性强的山羊造模方式在保持 IVD 不受过多的外力干扰的同时, 可以成功诱导 IVDD。因此, 本课题拟以椎间盘及脊柱相关结构的生物力学稳定性为突破点, 干扰腰椎动静力与静态力的平衡, 以此建立腰椎动静力不稳的山羊 IVDD 模型。

1 材料与方法

1.1 动物

山羊购自上海甲干生物科技有限公司, 共 12 只山羊用于本研究(雌性, 36 月龄)。所有山羊术前均健康, 并通过了防疫检查。所有山羊术前均接受了脊柱 X 线和磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 扫描, 以确保不存在 IVDD 相关疾病。山羊饲养在标准实验室条件下(22 °C 恒温, 12 h 光/暗循环的通风环境), 被允许自由饮水和进食。

1.2 手术及分组

随机选取 6 只山羊作为手术处理组, 进行腰椎动静力不稳手术 (lumbar dynamic and static instability, LDSI), 其余 6 只为对照组, 进行 SHAM。术前禁食禁水 24 h。山羊术前麻醉用药采用肌肉注射舒泰®50(盐酸替来他明盐酸唑拉西泮复合剂, 10 mg/kg), 维持术中麻醉采用 3 mg/kg 舒泰®50 联合吸入式全身麻醉气体(异氟烷, 3%, 1 L/min)。所有山羊接受围术期静脉注射抗生素(头孢唑肟钠, 2 mg/kg)。对于 SHAM 组山羊, 麻醉后置于手术台上, 俯卧位, 备皮、描绘手术标志并常规用碘伏消毒手术区域。根据棘突触诊, 使用腰后正中线入路, 起自 L₁ 棘突纵行向尾端制作 15 cm 的纵向切口。使用电刀烧灼止血, 逐层解剖皮下层、腰背筋膜直至棘上韧带。对于 LDSI 组山羊, 在上述操作后, 继续钝性分离肌筋膜, 使用牵开器将竖脊肌向外侧牵开, 暴露腰椎后柱视野后, 离断竖脊肌、背阔肌、腰最长肌、棘肌、棘上韧带和棘间韧带, 利用咬骨钳剪除腰椎棘突。2 组山羊完成相应手术后, 严密止血, 将肌肉、筋膜、皮肤分别逐层缝合。术中始终保持严格的无菌操作。定期更换敷料, 直至切口部位完全愈合。兽医人员每天至少观察 1 次动物的总体健康状况和外观, 并仔细监测疼痛、不适、步态或姿势的迹象。手术后对山羊进行 52 周的随访。

1.3 X 线片分析

术前 0 周、术后 26 周及术后 52 周在全身麻醉下对山羊进行腰椎 X 线检查(上海吉米, S320)。IVD 高度的变化通过椎间盘高度指数 (disc height index, DHI) 进行评估^[18-19]。在中线上及距中线两侧椎间盘宽度的 25% 处测量椎间盘高度

和相邻椎体高度。DHI 表示为从中线到椎间盘中央 50% 宽度边界的 3 个测量值的平均值除以 2 个相邻椎体高度的平均值。DHI 的计算公式^[20]为: $DHI = 2(DH1 + DH2 + DH3) / [(PV1 + PV2 + PV3) + (DV1 + DV2 + DV3)]$ 。

1.4 MRI 分析

术前、术后 26 周及术后 52 周在全身麻醉下对山羊进行腰椎 MRI 检查(上海联影, UMR580)。使用以下设置获得正中矢状面中的 T2 加权切片: 快速自旋回波序列, 重复时间为 3 200 ms, 回波时间为 100 ms, 切片厚度为 1 ms, 间隙为 0.3 mm。根据 Pfirrmann MRI 分级系统^[21]评估 IVD 变性分级, MRI 图像分为 I 级至 V 级。

1.5 组织学分析

两组分别各自随机选择 3 只山羊的 $L_{3/4}$ 、 $L_{4/5}$ 、 $L_{5/6}$ 椎间盘, 分别做未脱钙骨硬组织切片和脱钙骨组织切片。未脱钙骨硬组织切片与染色: 在 4% 多聚甲醛中固定 120 h 后, 梯度酒精依次脱水, 随后浸塑、包埋, 切成 10 μm 的切片。每个切片均用苏木素-伊红(hematoxylin and eosin, HE) 和 Masson 染液进行染色。脱钙骨组织切片: 在 4% 多聚甲醛中固定 120 h 后, 用 10% EDTA 脱钙 6 个月, 随后包埋在石蜡中, 切成 5 μm 的切片。每个切片均用 H&E 和 Masson 染液进行染色, 对 IVD 整体结构、髓核、纤维环以及软骨终板进行综合分析。使用光学显微镜(Nikon, Japan)观察图像, 运用 Koichi Masuda 等^[15]建立的 Masuda 组织学评分系统和先前发表的组织学分级系统^[22-23]分别评估椎间盘退变程度。

1.6 统计学方法

采用统计软件 SPSS 20.0 软件对数据进行分析。计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多

组间比较采用单因素方差分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 建立山羊 LDSI 动物模型

术前, 先对山羊拍摄腰椎侧位 X 线片(图 1A), 以确保不存在 IVDD 相关疾病。山羊麻醉后置于手术台上, 备皮后根据山羊肋骨、髂骨和棘突等骨性标志描绘手术标志(图 1B)。严格遵守无菌操作原则下, 采取腰后正中线入路, 起自 L_1 棘突纵行向尾端制作 15 cm 的纵向切口(图 1C)。使用电刀烧灼止血, 逐层解剖皮下层、腰背筋膜直至棘上韧带, 钝性分离肌筋膜, 使用牵开器将竖脊肌向外侧牵开, 暴露腰椎后柱视野(图 1D)。随后, 离断竖脊肌、背阔肌、腰最长肌、棘肌、棘上韧带和棘间韧带, 并利用咬骨钳剪除腰椎棘突(图 1E)。手术后 2 周, 再对山羊拍摄腰椎侧位 X 片以确认手术成功(图 1F)。

2.2 LDSI 诱发山羊腰椎间盘间隙狭窄

为了比较 SHAM 组和 LDSI 组山羊术前和术后 26 周和 52 周的椎间盘退变程度, 本研究测量了各组山羊的 $L_{3/4}$ 腰椎间盘的 DHI。X 线片结果显示(图 2A、B), SHAM 组山羊腰椎的术前 0 周, 术后 26 周和术后 52 周的 DHI(0.189 ± 0.014 , 0.185 ± 0.009 , 0.178 ± 0.007)并不存在差异(图 2E, $F=1.922$, $P>0.05$)。随着年龄的增长, 椎间盘只是发生了缓慢的退变。然而, LDSI 组山羊的 X 线片结果显示(图 2C、D), 其腰椎的术前 0 周(0.184 ± 0.015), 术后 26 周(0.105 ± 0.006)和术后 52 周(0.075 ± 0.007)的 DHI 差异均有统计学意义(图 2F, 0 周 vs. 26 周, $F=84.830$, $P<0.001$; 26 周 vs. 52 周, $F=84.830$, $P=0.032$)。在 LDSI 组山羊中, 术后 26 周的 DHI 高于术前 0 周,

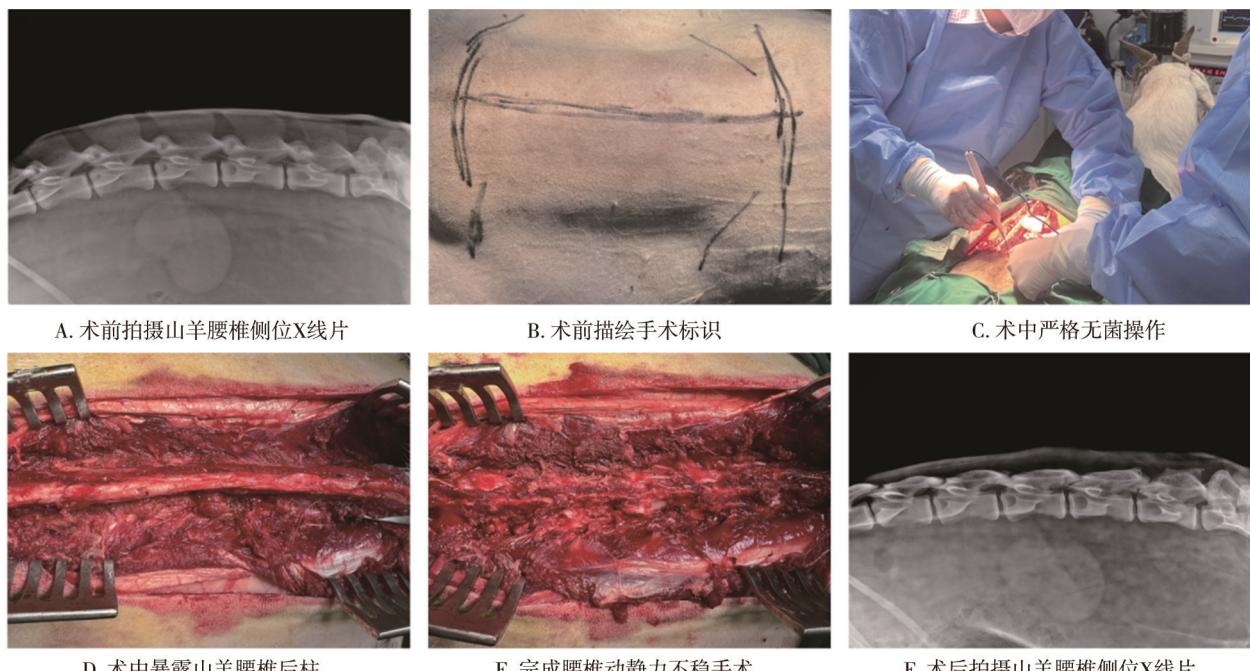


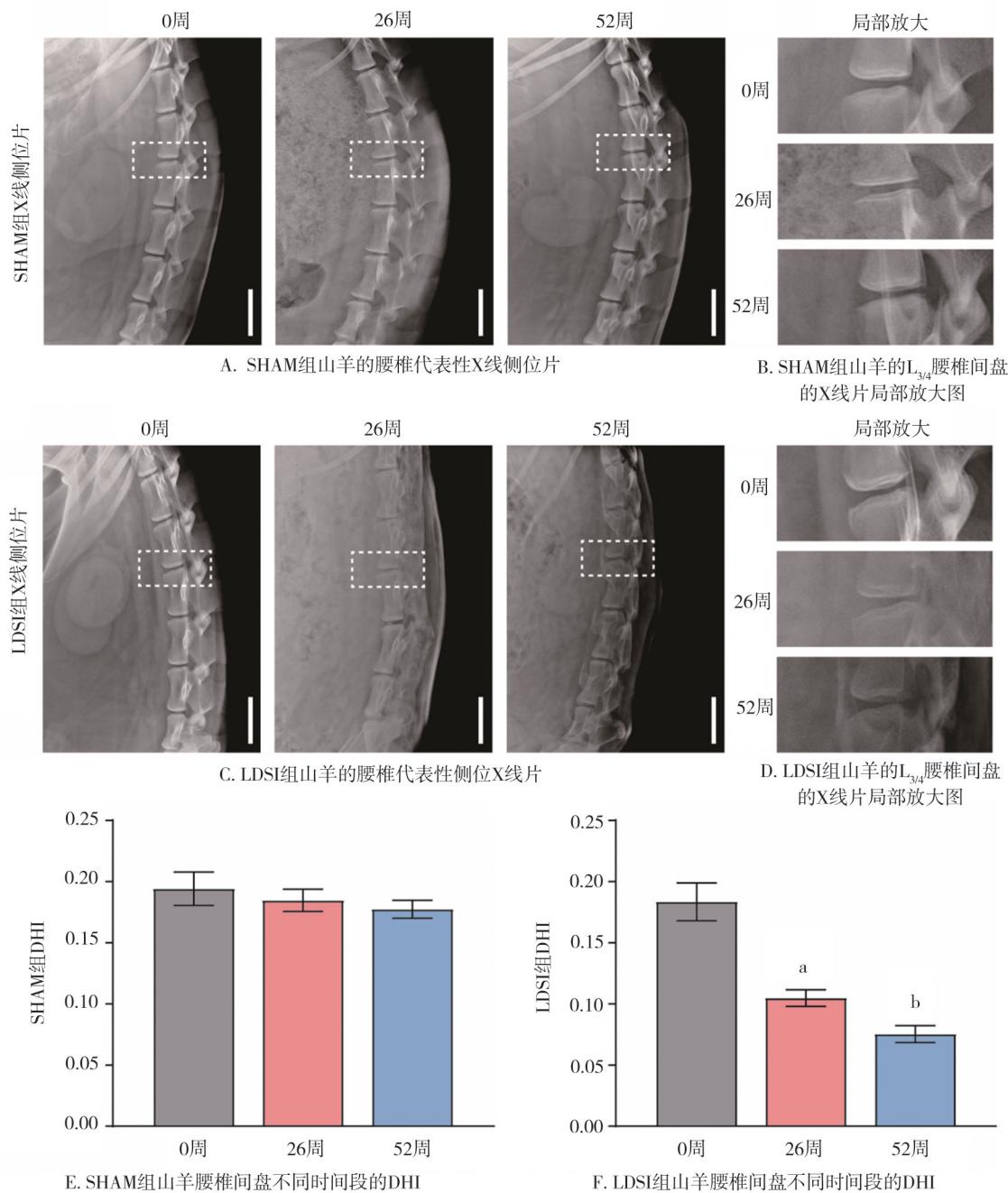
图 1 建立山羊 LDSI 动物模型

而 52 周的 DHI 也高于 26 周。这些结果表明,腰椎动静力不稳会加速椎间盘高度降低和软骨终板边界模糊。

2.3 LDSI 诱发山羊腰椎间盘 MRI 信号变化

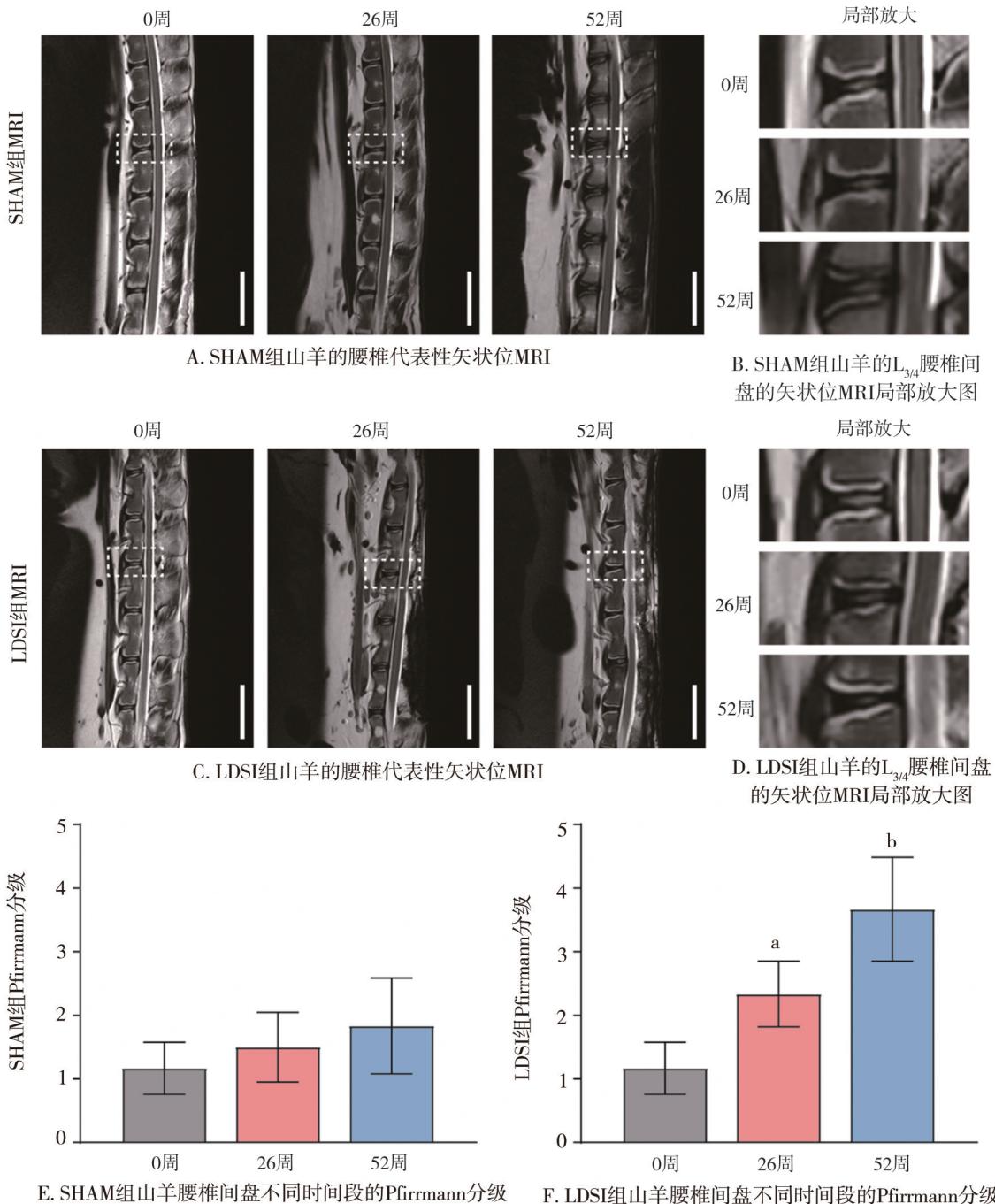
为了更清晰地展现椎间盘的变化,本研究进一步测量了 SHAM 组和 LDSI 组山羊术前 0 周和术后 26 周和 52 周的椎间盘 MRI T2 加权信号强度的变化。根据 MRI 结果显示(图 3A、B),SHAM 组山羊腰椎的术前 0 周,术后 26 周和术后 52 周的 Pfirrmann 分级(1.167 ± 0.408, 1.501 ± 0.548, 1.833 ± 0.753)并不存在差异(图 3E, $F=1.935, P>0.05$)。3 个时间段

的椎间盘信号均匀,呈明亮的白色高强度信号,随着年龄增长,椎间盘只有缓慢的信号变化。然而,LDSI 组山羊的 MRI 结果显示(图 3C、D),其腰椎的术前 0 周(1.167 ± 0.408),术后 26 周(2.333 ± 0.516)和术后 52 周(3.667 ± 0.817)的 Pfirrmann 分级差异均有统计学意义(图 3F,0 周 vs. 26 周, $F=25.610, P=0.012$; 26 周 vs. 52 周, $F=25.610, P=0.005$)。尤其是术后 52 周的 LDSI 组山羊椎间盘信号完全变暗,椎间盘结构塌陷(图 3D)。这些结果表明,腰椎动静力不稳会加速椎间盘含水量降低和椎间盘老化,诱发 IVDD。



注:a,与 0 周比较, $P<0.001$; b,与 26 周比较, $P<0.05$; $\bar{x} \pm s, n=3$, 标尺=50 mm

图 2 LDSI 诱发山羊腰椎间盘间隙狭窄



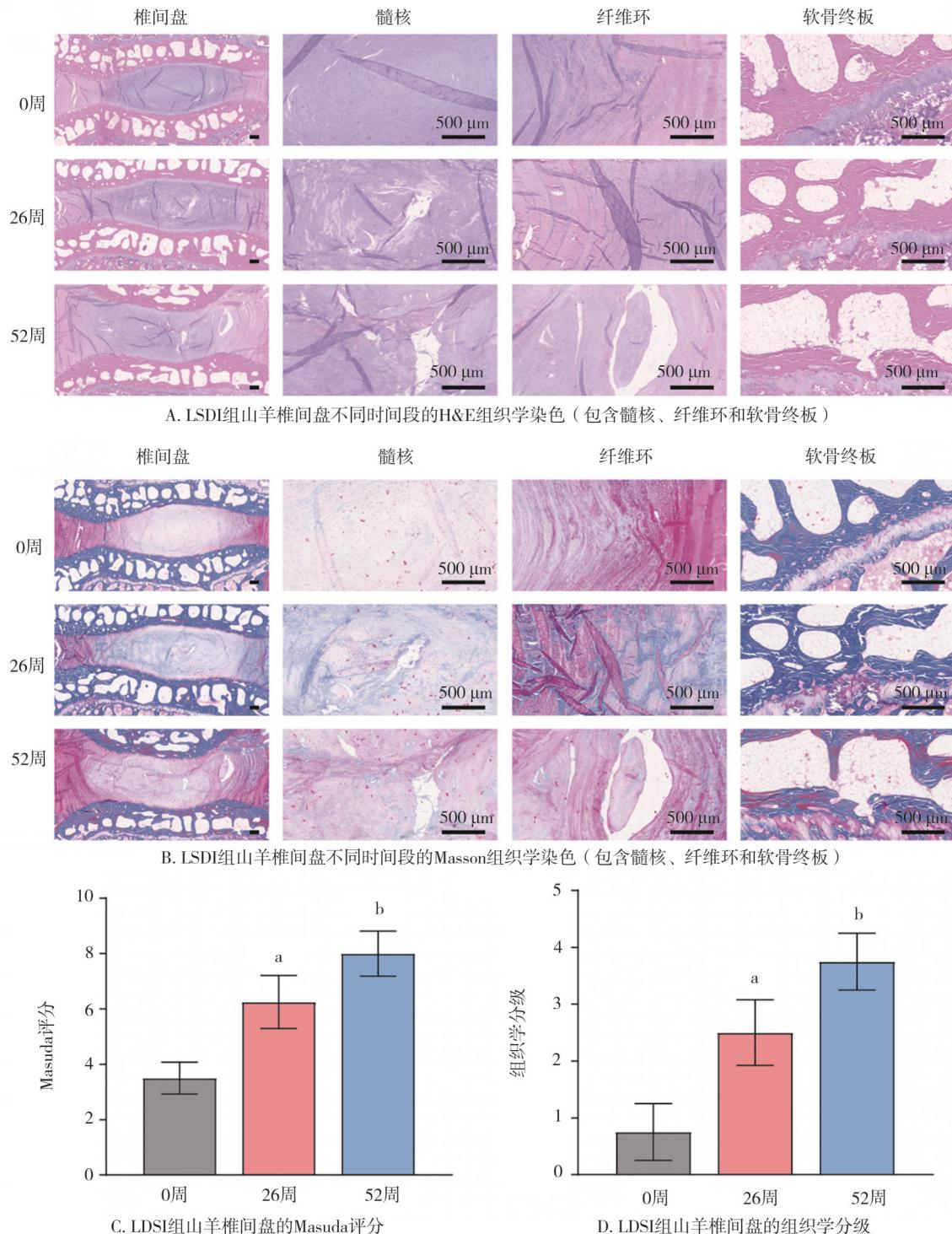
注:a, 与0周比较, $P<0.05$; b, 与26周比较, $P<0.01$; $\bar{x} \pm s, n=3$, 标尺=50 mm

图3 LDSI诱发山羊腰椎间盘MRI信号变化

2.4 LDSI诱发山羊腰椎间盘组织病理学变化

为了进一步观察山羊IVD在微观组织学上的病理学变化,本研究在LDSI术前0周、术后26,52周分别对LDSI组的山羊IVD进行了切片分析。如图4A、B所示,IVD的变化在H&E染色与Masson染色上呈现出一致的结果。简而言之,在LDSI术后26周,山羊的髓核组织逐渐被混乱的纤维组织所取代,而纤维环逐渐出现破碎和扭曲,部分软骨终板消失。随着时间的推移,在LDSI术后52周,山羊的髓核组织体积减小并出现了明显的结构性空洞,纤维组织非常混乱,髓核

和纤维环之间的边界出现了中断,软骨终板出现明显的钙化。此外,山羊IVD的Masuda评分结果(图4C、D)表明,LDSI组山羊腰椎的Masuda组织学评分在术前0周(3.500 ± 0.577),术后26周(6.250 ± 0.957)和术后52周(8.000 ± 0.816)存在差异(图3F;0周 vs. 26周, $F=32.220, P=0.002$; 26周 vs. 52周, $F=32.220, P=0.031$)。山羊IVD的组织学分级结果也符合这一变化。这些结果表明,腰椎动静力不稳会诱发IVD椎间盘髓核基质的纤维化、椎间盘纤维环组织的崩解以及软骨终板边界的破坏,最终导致IVDD。



注:a,与0周比较, $P<0.01$;b,与26周比较, $P<0.05$; $\bar{x} \pm s, n=3$

图4 LSDI诱发山羊腰椎间盘组织病理学变化

3 讨 论

IVDD会引起多种体征和症状,例如腰痛、椎间盘突出和椎管狭窄,造成高昂的社会和经济成本。

目前,IVDD可根据患者症状采取非手术治疗和手术治疗。但这些都只能缓解疼痛,并不能逆转疾病进展和重建脊柱生物力学功能^[5]。建立合适的临床前动物研究模型是将新兴疗法从实验室转化为临床人体应用的重要步骤。近年来,许多学者通过不

同种类动物与造模方法建立 IVDD 动物模型, 用于退变机制和治疗方法的探索与研究^[24]。然而, 这些动物模型设计在动物种类、相似性、可靠性、可重复性、可控性与造模周期等方面均有不足之处, 未能较真实模拟人类椎间盘退变过程的理想模型。例如, 鼠、兔等小型动物椎间盘体积较小, 模型制作过程损伤较大, 解剖结构、生理学特点及脊柱负荷情况与人类差异明显, 相似性较低^[25-26]; 恒河猴、猕猴等灵长类动物的伦理复杂、实验成本极高, 很难广泛应用^[27-28]; 沙鼠与狒狒等自发出现椎间盘退变倾向的特殊动物种属特异性强, 退变率不稳定^[29-30]。然而, 山羊 IVD 的解剖结构、大小、生物力学特性和生化成分与人类 IVD 相对接近^[31], 这使得山羊成为更好的模型来模拟人类 IVDD 的病理生理学。

脊柱生理功能的维持主要依靠椎体、椎间盘、小关节、韧带及肌肉等结构的协同作用, 脊柱稳定性是实现其正常生理功能的先决条件。目前在大型和小型动物模型中采用了多种诱导 IVDD 的造模方法, 但都各有优缺。例如, 结构损伤模型通过物理方法损伤纤维环、髓核或终板, 其中纤维环穿刺法的应用较为广泛。通过穿刺导致纤维环结构发生不可逆的破坏, 急性椎间盘突出, 髓核压力降低引起机械和生化的级联反应, 最终发展为 IVDD^[25, 32]。尽管纤维环穿刺法操作简单且重复性好, 但退变的程度严重, 进展较快, 不符合人类椎间盘缓慢退变的规律, 并且研究之间的破坏程度差异较大, 难以标准化。相比而言, 化学诱导模型通过将化学试剂注射到 IVD 来诱导 IVDD, 主要包括完全弗氏佐剂、软骨素酶 ABC 和木瓜凝乳蛋白酶等^[17, 33]。化学试剂可以增加蛋白多糖的分解, 从而引起髓核变性, 纤维环结构紊乱, 模拟了人类椎间盘中蛋白多糖的丢失, 并且药物的剂量易于控制。然而注射的化学药物影响了生化检测与干预治疗的结果, 注射的过程也造成了结构损伤。此外, 机械压缩模型通过对脊柱施加轴向载荷, 可以直接损伤椎间盘的结构^[34]。然而, 该方法仅模拟了单一力学因素, 并且过度载荷容易导致椎体结构与脊髓损伤。基因敲除模型通过敲除特定基因导致椎间盘关键物质合成代谢障碍, 从而影响椎间盘组成^[35]。但由于基因敲除仅证实了单一基因的作用, 并且操作难度高及费用较大, 不适用于广泛研究。总而言之, 目前尚无具有可操作性高、可靠性好、可重复性

强的大型动物造模方式在保持 IVD 不受过多的外力干扰的同时, 可以成功诱导 IVDD, 较好地模拟人体中的 IVDD。

综上所述, 本研究中构建的腰椎动静力不稳山羊模型可以较成功地模拟人类 IVDD 的过程。该模型在未暴力破坏 IVD 的条件下, 在长达 1 年的随访周期内缓慢呈现出从轻度到重度的一系列退行性变化, 包括椎间盘高度、骨终板变化、MRI 评分和组织学分级等。随着退变严重程度的增加, 山羊 IVD 的 Pfirrmann 等级增加, 这也与在老化和退变的人类 IVD 中观察到的 MRI 变化一致。在组织学上, 该模型中实现的退变范围涵盖了在人类 IVDD 中观察到的结构和成分的变化范围, 包括椎间盘高度逐渐降低、髓核基质的纤维化以及椎间盘纤维环组织的破坏。该动物模型构建时保持了 IVD 的结构完整性, 具有良好的可操作性, 与人类 IVDD 相似性高、可靠性好、可重复性强, 较真实地模拟了人类脊柱局部生物载荷对 IVDD 的作用。此外, 腰椎动静力失衡诱发 IVDD 的进程相对较缓, 可控性较好, 为缓解或逆转退变进程的药物研发提供了足够的时间窗口, 有待进一步研究验证。

参 考 文 献

- [1] GBD Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. Lancet, 2018, 392(10159): 1789–1858.
- [2] Wu AM, March L, Zheng XQ, et al. Global low back pain prevalence and years lived with disability from 1990 to 2017: estimates from the Global Burden of Disease Study 2017[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(6): 299.
- [3] Vlaeyen JWS, Maher CG, Wiech K, et al. Low back pain[J]. Nat Rev Dis Primers, 2018, 4: 52.
- [4] Maher C, Underwood M, Buchbinder R. Non-specific low back pain[J]. Lancet, 2017, 389(10070): 736–747.
- [5] Xin JG, Wang YJ, Zheng Z, et al. Treatment of intervertebral disc degeneration[J]. Orthop Surg, 2022, 14(7): 1271–1280.
- [6] Wang YD, Kang JH, Guo XD, et al. Intervertebral disc degeneration models for pathophysiology and regenerative therapy—benefits and limitations[J]. J Invest Surg, 2022, 35(4): 935–952.
- [7] Jin L, Balian G, Li XJ. Animal models for disc degeneration—an update[J]. Histol Histopathol, 2018, 33(6): 543–554.
- [8] Hoogendoorn RJ, Wuisman PI, Smit TH, et al. Experimental intervertebral disc degeneration induced by chondroitinase ABC in the goat

- [J]. Spine, 2007, 32(17):1816-1825.
- [9] Fazzalari NL, Costi JJ, Hearn TC, et al. Mechanical and pathologic consequences of induced concentric anular tears in an ovine model[J]. Spine, 2001, 26(23):2575-2581.
- [10] Hoogendoorn RJ, Helder MN, Kroeze RJ, et al. Reproducible long-term disc degeneration in a large animal model[J]. Spine, 2008, 33(9):949-954.
- [11] Beckstein JC, Sen S, Schaer TP, et al. Comparison of animal discs used in disc research to human lumbar disc: axial compression mechanics and glycosaminoglycan content[J]. Spine, 2008, 33(6):E166-E173.
- [12] Krijnen MR, Mensch D, van Dieen JH, et al. Primary spinal segment stability with a stand-alone cage: *in vitro* evaluation of a successful goat model[J]. Acta Orthop, 2006, 77(3):454-461.
- [13] Elliott DM, Yerramalli CS, Beckstein JC, et al. The effect of relative needle diameter in puncture and sham injection animal models of degeneration[J]. Spine, 2008, 33(6):588-596.
- [14] Martin JT, Gorth DJ, Beattie EE, et al. Needle puncture injury causes acute and long-term mechanical deficiency in a mouse model of intervertebral disc degeneration[J]. J Orthop Res, 2013, 31(8):1276-1282.
- [15] Masuda K, Aota Y, Muehleman C, et al. A novel rabbit model of mild, reproducible disc degeneration by an anulus needle puncture: correlation between the degree of disc injury and radiological and histological appearances of disc degeneration[J]. Spine, 2005, 30(1):5-14.
- [16] Sasaki M, Takahashi T, Miyahara K, et al. Effects of chondroitinase ABC on intradiscal pressure in sheep: an *in vivo* study[J]. Spine, 2001, 26(5):463-468.
- [17] Chan SCW, Bürki A, Bonél HM, et al. Papain-induced *in vitro* disc degeneration model for the study of injectable nucleus pulposus therapy[J]. Spine J, 2013, 13(3):273-283.
- [18] Masuda K, Imai Y, Okuma M, et al. Osteogenic protein-1 injection into a degenerated disc induces the restoration of disc height and structural changes in the rabbit anular puncture model[J]. Spine, 2006, 31(7):742-754.
- [19] Han B, Zhu K, Li FC, et al. A simple disc degeneration model induced by percutaneous needle puncture in the rat tail[J]. Spine, 2008, 33(18):1925-1934.
- [20] Zhang Y, He F, Chen Z, et al. Melatonin modulates IL-1 β -induced extracellular matrix remodeling in human nucleus pulposus cells and attenuates rat intervertebral disc degeneration and inflammation[J]. Aging, 2019, 11(22):10499-10512.
- [21] Pfirrmann CW, Metzdorf A, Zanetti M, et al. Magnetic resonance classification of lumbar intervertebral disc degeneration[J]. Spine, 2001, 26(17):1873-1878.
- [22] Nishimura K, Mochida J. Percutaneous reinsertion of the nucleus pulposus. An experimental study[J]. Spine, 1998, 23(14):1531-1538; discussion 1539.
- [23] Zeng Y, Chen C, Liu W, et al. Injectable microcryogels reinforced alginate encapsulation of mesenchymal stromal cells for leak-proof delivery and alleviation of canine disc degeneration[J]. Biomaterials, 2015, 59:53-65.
- [24] Daly C, Ghosh P, Jenkin G, et al. A review of animal models of intervertebral disc degeneration: pathophysiology, regeneration, and translation to the clinic[J]. Biomed Res Int, 2016, 2016:5952165.
- [25] Rousseau MA A, Ulrich JA, Bass EC, et al. Stab incision for inducing intervertebral disc degeneration in the rat[J]. Spine, 2007, 32(1):17-24.
- [26] 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, 2005, 30(1):33-37.
- [27] Nuckley DJ, Kramer PA, del Rosario A, et al. Intervertebral disc degeneration in a naturally occurring primate model: radiographic and biomechanical evidence[J]. J Orthop Res, 2008, 26(9):1283-1288.
- [28] Wei FX, Zhong R, Zhou ZY, et al. *In vivo* experimental intervertebral disc degeneration induced by bleomycin in the rhesus monkey[J]. BMC Musculoskelet Disord, 2014, 15:340.
- [29] 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, 2002, 27(3):230-234.
- [30] Platenberg RC, Hubbard GB, Ehler WJ, et al. Spontaneous disc degeneration in the baboon model: magnetic resonance imaging and histopathologic correlation[J]. J Med Primatol, 2001, 30(5):268-272.
- [31] Zhang YJ, Drapeau S, Howard SA, et al. Transplantation of goat bone marrow stromal cells to the degenerating intervertebral disc in a goat disc injury model[J]. Spine, 2011, 36(5):372-377.
- [32] Zhang YJ, Drapeau S, An HS, et al. Histological features of the degenerating intervertebral disc in a goat disc-injury model[J]. Spine, 2011, 36(19):1519-1527.
- [33] Lü DS, Shono Y, Oda I, et al. Effects of chondroitinase ABC and chymopapain on spinal motion segment biomechanics. An *in vivo* biomechanical, radiologic, and histologic canine study[J]. Spine, 1997, 22(16):1828-1834; discussion 1834-1835.
- [34] 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):2721-2727.
- [35] Millecamps M, Tajerian M, Naso L, et al. Lumbar intervertebral disc degeneration associated with axial and radiating low back pain in ageing SPARC-null mice[J]. Pain, 2012, 153(6):1167-1179.

(责任编辑:曾 玲)