

鼠和兔椎间盘退变模型及临床转化的应用

邓洪利¹ 张蕊¹ 赵静静¹ 杨瑞泽¹ 周劲松^{1△}

[关键词] 椎间盘退变;模型;鼠;兔;临床转化

[中图分类号] R681.5 [文献标志码] A [文章编号] 1005-0205(2018)08-0084-05

椎间盘退变是导致腰背疼痛的主要原因,其确切的病理机制尚不十分清楚。动物模型的建立是研究椎间盘退变的基础和关键,同时也为验证细胞移植治疗方法提供了实验载体。在各种动物模型中以鼠和兔椎间盘退变模型应用最为广泛,本文根据近年鼠和兔椎间盘各种退变模型及临床转化应用的研究现状综述如下。

1 鼠和兔椎间盘退变模型的建立依据

选择理想动物模型的要求:1)成年时脊索细胞消失;2)椎间盘几何形状、尺寸、营养供应与人类相似;3)直立姿势下生物力学对椎间盘的影响;4)道德、经济与可操作性。其中成年时脊索细胞消失最为关键,主要是由于人类椎间盘中纤维软骨细胞和髓核细胞都来源于脊索细胞^[1],而这些脊索细胞仅保留在整个童年阶段,到成年时就消失了,取而代之的是类脊索样细胞^[2],椎间盘退变早期重要过程就是髓核中脊索细胞的消失。而直立姿势下生物力学对椎间盘影响作用较小,有研究表明椎间盘周围肌肉和韧带的收缩力和张力对椎间盘的影响比直立姿势下生物力学影响更大。至今还没有任何一种动物模型能够完美的符合这些要求。目前为止,用于制作椎间盘退变动物模型的动物有很多种,其中鼠、兔、CD狗、绵羊、恒河猴是比较理想的动物,但由于道德、来源等因素限制了大型哺乳类和灵长类动物的应用。

目前,鼠和兔椎间盘退变模型是最为常用的动物模型,它们在一定程度上满足了理想动物模型的要求。如:Hunter等^[3]对动物椎间盘中脊索细胞的研究发现兔椎间盘中的脊索细胞到出生后12个月的成熟期就消失了,这与脊索细胞在人类椎间盘中存活的周期是相同的。O'Connell等^[4]在动物与人类的椎间盘比较研究中发现小鼠的腰椎间盘的几何形状与人类椎间盘最为相似。Showalter等^[5]在动物椎间盘实验研究

中发现大鼠的椎间盘终板软骨下血管分布与人类高度一致。此外,鼠和兔模型还具有操作简单,经济成本低,道德约束小等优势。

2 鼠和兔椎间盘退变模型建立

2.1 自发性退变模型

年龄与自发性椎间盘退变的关系一直是研究的重点。Clouet等^[6]在实验中用多种方法检测不同年龄段的兔椎间盘,将1、6及30月龄的新西兰兔分成三组,从每组中取3只进行影像学和组织学检测,每组中取5只进行PCR分析,所有新西兰兔的处理和手术过程都根据欧洲实验室动物护理和使用指南统一操作。从核磁共振的检查结果分析发现1月龄兔的椎间盘在开始即发生相当于Pfarrmann分级中第Ⅰ级的改变,6月龄的相当于Pfarrmann分级的第Ⅱ级改变,30月龄的相当于Pfarrmann分级中第Ⅲ级改变,组织学检查发现从1月龄到30月龄的Boos'modified评分明显增高,30月龄兔的评分是1月龄兔的5.5倍高,差异有统计学意义($P<0.05$),PCR分析发现COL2A1和AGC1的表达随兔月龄的增加而减少,COL1A1,MMP-13,BMP-2,MGP及p21的表达随月龄的增加而增加。从而得出了随着月龄的增加兔的椎间盘组织发生明显的退变。因此建立与年龄相关的自发性兔椎间盘退变模型具有可行性。此外,饮食与基因因素也可以引起椎间盘自发性的退变,虽然很多因素与自发性椎间盘退变有关,但由于退变周期过长和具体的发病原因不详限制了其应用。

2.2 力学退变模型

力学模型的优势在于固定的时间复制典型的操作来引发椎间盘退行性病变,流行病学研究表明椎间盘退变与受力学影响有很大关系,力学模型可分为压缩应力型和脊柱不稳型,但两者仍有一定程度的重叠。

2.2.1 压缩应力型 压缩应力的建模方式有弯曲固定、姿势改变、轴向压缩。Lindblom等^[7]通过弯曲固定大鼠尾部观察到处于凹侧面的椎间盘纤维环退变,

¹ 西安市红会医院(西安,710054)

主要表现为结缔组织的损伤和细胞数量的减少,从而建立了退变模型。Court 等^[8]用同样的方式固定大鼠尾部观察到凹侧面椎间盘中细胞的消亡的数量增加和蛋白聚糖基因的表达式减少,而这种改变在轻度压缩的小鼠身上就不存在。另外一些研究中则通过手术去除大鼠的前肢,使其在饲养过程中改变姿势,依靠双后肢直立行走诱导腰椎间盘突出从而建立退变模型。

近些年来,轴向压缩建模的方法得到了广泛认可。Latridis 等^[9]对大鼠的尾部安装静态压缩装置(Llizarow-type)建模,将大鼠分为对照组、固定组和压缩组,结果发现固定组和压缩组的椎间盘高度、轴向顺应性、角度松弛性均降低,这种改变在压缩组出现的更早、更严重。随着研究的进一步深入,在轴向压缩的时间、强度和频率对椎间盘的影响有了新的认识,周期性压缩模型也随之建立。Ching 等^[10]通过克氏针横穿入大鼠 6~7 尾椎对其轴向压缩超过 2 周造模,大鼠分为对照组,静态压缩组,分别在 0.5、1.5 及 2.5 Hz 频率下的周期性压缩组,从第 3 天到第 17 天每天加载 1 h,检测 0、3、10 及 17 d 的针间距、轴向顺应性和角度松弛性。结果发现椎间盘退变的程度取决于加载负荷的时间和频率,静态压缩比周期性压缩椎间盘退变会更加明显,但在特定频率(1.5 Hz)下可能会导致更严重的退变。

2.2.2 脊柱不稳型 此模型主要通过手术切除椎体后柱成分(如:棘突和上下突关节)和脊柱融合破坏脊柱的平衡状态,使脊柱过度运动,产生脊柱不稳,来诱导椎间盘退变。Miyamoto 等^[11]研究证明切除小鼠椎体后棘突及棘间韧带、分离椎旁肌肉能加速相应阶段椎间盘的退变,从而建立了小鼠椎间盘退变模型。Phillips 等^[12]对兔 L₅₋₇ 水平行腰椎的融合术,3 个月后观察到 L₄₋₅ 和 L_{7-S₁} 椎间盘纤维环组织破坏,正常的胶原束序列缺失,6 个月后这种退变进一步加重,9 个月后正常的椎间盘结构被混乱纤维组织取代,纤维软骨细胞缺失,脊索细胞减小到单体蛋白聚糖的大小。从而得出运用脊柱融合术可以建立兔椎间盘退变模型。此建模方法虽然可以逐步的诱导椎间盘退变,但周期比较长,一般需要 9~12 个月,这大大提高了经济成本,限制了广泛应用。

2.3 结构模型

结构模型主要是通过物理和化学的方法直接损伤椎间盘结构的完整性来诱导椎间盘的退变。

2.3.1 物理损伤模型 物理损伤模型主要包括纤维环损伤模型、纤维环髓核联合损伤模型、终板损伤模型。Key 等在 1948 年首次运用手术刀刺穿纤维环建立了椎间盘退变模型。桂柯科等^[13]通过开放手术,用 16-gauge 穿刺针针刺兔纤维环,术后 MRI 观察到髓核

信号强度和椎间隙高度逐渐降低,髓核面积逐渐缩小,从而建立兔椎间盘退变模型。Kim 等^[14]研究通过开放手术刀刺与不同大小的针头针刺建模的效果差异,使用刀刺和 21-gauge、18-gauge 及 16-gauge 的针头针刺法制备退变模型,研究发现刀刺建模后 2 周椎间盘退变就没再继续进行,而针刺法构建的模型可观察到缓慢渐进的椎间盘退变并且 18-gauge 和 16-gauge 针刺建模效果更明显,但该方法对纤维环周围结构损伤大,操作比较复杂。近些年来,透视引导下的经皮穿刺术得到了广泛应用。Li 等^[15]在 C 臂机透视下利用 27-gauge 穿刺针损伤大鼠的纤维环,影像学、组织学及 RT-PCR 检测结果显示大鼠椎间盘退变是逐步进行的病理过程,与人类的椎间盘退变过程相似,从而建立了大鼠椎间盘退变模型。Zhou 等^[16]利用 X 线成像引导经皮穿刺技术建立兔椎间盘退变模型,操作关键是用 18-gauge 的经皮穿刺针损伤椎间盘纤维环,深度是 5mm,影像学分析显示穿刺 4 周后椎间盘空间缩小,12 周后边缘骨赘形成,并且磁共振 T2 信号强度在整个椎间盘上均减低,组织学分析显示穿刺 4 周后椎间盘正常结构在逐渐缺失,生化学分析显示蛋白聚糖的表达随着时间的增加在逐渐减少。此方法对纤维环周围结构的损伤较小,与人类椎间盘退变过程相似,操作简单,重复性好。

纤维环和髓核联合损伤法可以短时间内诱导显著的椎间盘退变。Issy 等^[17]利用 20-gauge 的皮肤穿刺针在透视引导下从成年雄性 Wistar 大鼠尾椎间盘纤维环一侧刺入穿越髓核到对侧的纤维环,旋转 360°两次,维持 30 s,分别从影像学和组织学评分分析损伤后 7 d 和 30 d 的椎间盘变化,发现损伤后 7 d 椎间盘轻度退变,30 d 后严重退变,组织学评分与影像学图像变化成正相关,而且 Wistar 大鼠并没有发生死亡和系统性并发症,从而建立了 Wistar 大鼠尾椎间盘退变模型。终板损伤也可以引起椎间盘的退变,但由于终板损伤的破坏程度不易掌握,损伤后易造成周围组织出血和肉芽组织的形成影响造模,限制了该方法的应用。Zhang 等^[18]通过比较建立新西兰兔椎间盘退变模型的 3 种方法,发现纤维环髓核联合损伤法和终板损伤法比纤维环穿刺法造成的椎间盘退变更迅速、更严重。

2.3.2 化学损伤

向动物椎间盘内注射化学物质来建立椎间盘退变模型是许多研究者常用的方法。早期研究中用木瓜凝乳蛋白酶溶解髓核来造模,原理是木瓜凝乳蛋白酶能够水解聚合蛋白和清除粘多糖链,导致椎间盘高度的下降,改变脊柱生物力学稳定性,从而使椎间盘退变,该方法可操作性强,但其生物毒性大,剂量不足时蛋白多糖会及时的恢复补充,并且人体椎间盘内本来不存在此蛋白酶,与人类椎间盘退变的过

程存在较大差异。Boxberger 等^[19]对大鼠腰椎间盘突出注射一定剂量硫酸软骨素 ABC, 术后 4 周发现髓核中蛋白聚糖减少 43%, 椎间盘高度降低了 12%, 从而建立了椎间盘退变模型。软骨素 ABC 毒性小, 可操作性强, 但人类椎间盘中同样不存在天然的硫酸软骨素 ABC, 并且它可以使椎间盘细胞的生存能力很大程度的保留下来, 使髓核细胞外基质得到再生, 因此限制了广泛应用。近年来, 注射纤维蛋白及其片段 (Fn-f) 来造模的方法得到了认可, Fn-f 弥补了前两者的缺点, 并且人类椎间盘中有天然的 Fn-f, Ruel 等^[20]对人类椎间盘退变组织研究中发现成人椎间盘中包含许多 Fn-f 的种类, 并且在中度退化的椎间盘组织内含量更多。Liu 等^[21]向兔椎间盘注射一定剂量 Fn-f, 术后发现 Fn-f 可以逐步的诱导兔椎间盘的退化, 与人类椎间盘自然退变的过程很相似, 从而建立了椎间盘退变模型, 并且此方法还具有一定的成本效益和良好的重复性。

3 鼠和兔椎间盘退变模型临床转化

尽管上述鼠和兔的椎间盘退变模型还有很多局限性, 但这些模型在增加笔者对椎间盘退变病理生理学了解和临床应用的转化上仍然发挥着重要作用, 由于椎间盘退变复杂性, 细胞治疗被认为是最好的治疗方法, 最近 Oehme 等^[22]详细的描述了各种新颖的细胞治疗临床前和临床中的椎间盘退变, 鼠^[23]和兔^[24]模型被应用在临床转化前的实验治疗研究中, 并且绝大多数的建模方法都是利用纤维环损伤法, 具体参与实验有治疗潜能的细胞有髓核软骨细胞^[25]、骨髓间充质干细胞 (BMSCs)^[24]、脂肪间充质干细胞^[26]、骨髓间充质前体细胞^[27]、脐带间充质干细胞 (umbilical cord mesenchymal stem cells, UCMSCs)。在证明取的一定疗效后又随即应用到对临床患者的实验研究中, Meisel 等^[28]对单个椎间盘切除的患者行自体髓核软骨细胞移植, 临时分析 28 个病人发现 24 个月内受细胞移植的病人痛苦明显减少, MRI 显示椎间盘内液体含量增加, Orozco 等^[29]在两小组椎间盘退变引起的下腰痛患者中经皮注射自体间充质干细胞发现大部分患者症状改到第二阶段, 大部分的治疗患者仅存留小部分的背部疼痛, 下腰痛也减少了 50%, 三期试验正在完善, 椎间盘 MRIT2 信号增强, Bae 等^[30]对同种异体间充质前体细胞治疗腰背痛的研究也进行进行中。Pang 等^[31]对 2 例患有椎间盘源性疼痛的病人进行了 UCMSCs 椎间盘内移植治疗, 术后 2 年内的随访显示病人 ODI 和 VAS 评分有显著下降。近期发表的临床研究中^[32], 26 例病人在接受 BMSCs 治疗后, Oswestry 功能障碍指数 Oswestry Disability Index, ODI)、疼痛视觉模拟量表 (VAS) 评分以及 Pfirrmann 分级都有显

著改善。Elabd 等^[33]通过对病人影像学资料和生活问卷调查的方式, 对 5 例椎间盘退行性变的病人在接受骨髓 MSCs 椎间盘内注射治疗后进行了 6 年的随访, 结果表明干细胞疗法安全有效。但是 BMSCs 在骨髓中占比非常低, 其含量随着捐献者年龄的增加而逐渐降低, 获取足量的细胞比较困难。UCMSCs 是目前常用的治疗椎间盘退行性变的 MSCs, 相比骨髓间充质干细胞与髓核软骨细胞, UCMSCs 具有更高效的增殖分化能力, 此外 UCMSCs 具有来源广泛、无痛收集和无伦理学争议等优点^[34]。还有研究认为^[35], 将干细胞疗法与组织工程支架进行组合能够提供一种更有效的改善退变髓核的途径, 将负载脂肪间充质干细胞的透明质酸衍生物注入 10 例慢性腰痛的病人的椎间盘内, 1 年后随访发现, 病人的 VAS 评分, ODI 及 SF-36 和影像学评估等各方面都有着显著改善。

在动物椎间盘退变模型转化到临床治疗过程中还有一个重要的环节, 就是临床症状与椎间盘退变关系的研究, 在椎间盘退变引起的疾病中疼痛是患者的主要临床症状, 具有一定的主观性, 本质上是有很多因素决定的, 很多时候临床影像学观察到的椎间盘退变与疼痛不一定完全相关, 用于检测椎间盘退变的措施 (如: 组织学、生化分析、影像学) 只能作为潜在椎间盘变性的评估, 表明有限程度的功能残疾可能与这些指标有关, 但不能直观的反映临床症状与椎间盘退变的关系。椎间盘退变动物模型相关疼痛评估的研究才处于初级阶段, 大多数的研究都在鼠^[36]模型上。这些模型的评估方法^[37]主要分为三种: 1) 观察疼痛行为 (如增加梳理皮毛和摇尾^[38]); 2) 测量运动功能; 3) 测定对机械或热刺激的反应。最近在鼠模型上比较不同疼痛评估方法^[37]的研究中发现测定后爪的机械敏感性和观察梳理皮毛持续的时间最为精确。尽管应用在鼠模型上的疼痛评估并不完美, 但很大程度上增加了笔者对与疼痛相关的椎间盘退变病理生理学的了解。

4 未来展望

动物模型的研究目的在于明确对椎间盘退变的病理机制的理解, 将新型的治疗方法转化到临床应用上。目前由于大型动物模型的诸多限制, 小型动物鼠和兔仍然是未来椎间盘退变模型研究的对象, 特别是研究特定基因表达产物对椎间盘退变作用的转基因或基因敲除的小鼠。近些年来, 各种方法应用在建立鼠和兔的椎间盘退变模型上, 自发性退变模型虽然与椎间盘自然退变过程在时间上是平行的, 但其发病的周期过长和多因素性导致很难加以利用, 力学模型中轴向压缩模型能够高效的诱发轻中度的椎间盘退变, 很好的符合椎间盘退变的规律, 但由于造模方法复杂, 创伤比较大也限制了应用。结构模型中经皮穿刺纤维环损伤

模型的椎间盘退变与人类椎间盘退变较为相似,还具有创伤小、操作简单、重复性好的优势,从而得到广泛认可,并且此模型能够在特定的时间点持续的制造一个可复制的损伤,这也比较利于研究椎间盘再生细胞疗法。

虽然鼠和兔的模型已经在临床转化中得到了应用,尤其是细胞治疗对椎间盘退变再生修复作用。但仍不能与临床椎间盘退变的情况完全相符,主要是由于椎间盘退变的复杂性和决定病人主观症状的疼痛的综合影响,未来动物模型的研究将会朝着全面模拟人类椎间盘解剖生理特性和退变后相应临床症状的方向发展。

参考文献

- [1] Silberberg R, Aufdermaur M, Adler JH. Degeneration of the intervertebral disks and spondylosis in aging sand rats [J]. Archives of Pathology and Laboratory Medicine, 1979,103(5):231-235.
- [2] Alini M, Eisenstein SM, Ito K, et al. Are animal models useful for studying human disc disorders/degeneration [J]? European Spine Journal, 2008,17(1):2-19.
- [3] Hunter CJ, Matyas JR, Duncan NA. Cytomorphology of notochordal and chondrocytic cells from the nucleus pulposus: a species comparison [J]. Anat, 2004,205:357-362.
- [4] O'Connell GD, Vresilovic EJ, Elliott DM. Comparison of animals used in disc research to human lumbar disc geometry [J]. Spine, 2007,32(3):328-333.
- [5] Showalter BL, Beckstein JC, Martin JT, et al. Comparison of animal discs used in disc research to human lumbar disc: torsion mechanics and collagen content [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2012,37(15):E900-907.
- [6] Clouet J, Pot-Vaucel M, Grimandi G, et al. Characterization of the age-dependent intervertebral disc changes in rabbit by correlation between MRI, histology and gene expression [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2011,4(12):147-156.
- [7] Lindblom K. Intervertebral-disc degeneration considered as a pressure atrophy [J]. The Journal of Bone and Joint Surgery, 1957,39(4):933-945.
- [8] Court C, Colliou OK, Chin JR, et al. The effect of static in vivo bending on the murine intervertebral disc [J]. Spine Journal, 2001,1(4):239-245.
- [9] Iatridis JC, Mente PL, Stokes IA, et al. Compression-induced changes in intervertebral disc properties in a rat tail model [J]. Spine (Phila Pa 1976), 1999,24(10):996-1002.
- [10] Ching CT, Chow DH, Holmes AD, et al. The effect of cyclic compression on the mechanical properties of the intervertebral disc: an in vivo study in a rat tail model [J]. Clinical Biomechanics, 2003,18(3):182-189.
- [11] Miyamoto S, Yonenobu K, Ono K. Experimental cervical spondylosis in the mouse [J]. Spine (Phila Pa 1976), 1991,16:S495-S500.
- [12] Phillips FM, Reuben J, Wetzel FT. Intervertebral disc degeneration adjacent to a lumbar fusion [J]. Journal of Bone and Joint Surgery B, 2002,84(2):289-294.
- [13] 桂柯科,尹望平,周颺,等.纤维环穿刺法建立兔椎间盘退变模型 [J]. 中国矫形外科杂志, 2010,18(21):1814-1816.
- [14] Kim KS, Yoom 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.
- [15] Li D, Yang H, Huang Y, et al. Lumbar intervertebral disc puncture under C-arm fluoroscopy: a new rat model of lumbar intervertebral disc degeneration [J]. Exp Anim, 2014,63(2):227-234.
- [16] Zhou RP, Zhang ZM, Wang L, et al. Establishing a disc degeneration model using computed tomography-guided percutaneous puncture technique in the rabbit [J]. Surg Res, 2013,181(2):e65-74.
- [17] Issy AC, Castania V, Castania M, et al. Experimental model of intervertebral disc degeneration by needle puncture in Wistar rats [J]. Braz J Med Biol Res, 2013,46(3):235-244.
- [18] Zhang W, Li T, Gong Q, et al. A comparative study on establishing rabbit intervertebral disc degeneration models by three methods [J]. Zhong guo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi, 2010,24(1):41-45.
- [19] Boxberger JI, Auerbach JD, Sen S, et al. An in vivo model of reduced nucleus pulposus glycosaminoglycan content in the rat lumbar intervertebral disc [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2008,33(2):146-154.
- [20] Ruel N, Markova DZ, Adams SL, et al. Fibronectin fragments and the cleaving enzyme ADAM-8 in the degenerative human intervertebral disc [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2014,39(16):1274-279.
- [21] 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.
- [22] Oehme D, Goldschlager T, Ghosh P, et al. Cell-based therapies used to treat lumbar degenerative disc disease: a systematic review of animal studies and human clinical trials [J]. Stem Cells International, 2015,2015(2):946031-946016.
- [23] Jeong JH, Jin ES, Min JK, et al. Human mesenchymal stem cells implantation into the degenerated coccygeal disc of the rat [J]. Cytotechnology, 2009,59(1):55-64.
- [24] Sakai D, Mochida J, Iwashina T, et al. Differentiation of mesenchymal stem cells transplanted to a rabbit degenerative disc model: potential and limitations for stem cell therapy in disc regeneration [J]. Spine (Phila Pa 1976), 2005,30(21):2379-2387.

[25] Hohaus C, Ganey TM, Minkus Y, et al. Cell transplantation in lumbar spine disc degeneration disease[J]. European Spine Journal, 2008, 17(4): 492-503.

[26] 沈祥, 徐宏光, 马明明, 等. 脂肪间充质干细胞注入退变椎间盘局部的作用[J]. 中国组织工程研究, 2017, 21(1): 77-81.

[27] Oehme D, Ghosh P, Shimmon S, et al. Mesenchymal progenitor cells combined with pentosan polysulfate mediating disc regeneration at the time of microdiscectomy: a preliminary study in an ovine model[J]. Journal of Neurosurgery Spine, 2014, 20(6): 657-669.

[28] Meisel HJ, Siodla V, Ganey T, et al. Clinical experience in cell-based therapeutics: disc chondrocyte transplantation: a treatment for degenerated or damaged intervertebral disc[J]. Biomolecular Engineering, 2007, 24(1): 5-21.

[29] Orozco L, Soler R, Morera C, et al. Intervertebral disc repair by autologous mesenchymal bone marrow cells: a pilot study[J]. Transplantation, 2011, 92(7): 822-828.

[30] Bae HW, Amirdelfan K, Coric D, et al. A phase II study demonstrating efficacy and safety of mesenchymal precursor cells in low back pain due to disc degeneration[J]. The Spine Journal, 2014, 24(11): S31-S32.

[31] Pang X, Yang H, Peng B. Human umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation for the treatment of chronic discogenic low back pain[J]. Pain Physician, 2014, 17(4): E525-E530.

[32] Pettine KA, Murphy MB, Suzuki RK, et al. Percutaneous injection of autologous bone marrow concentrate cells significantly reduces lumbar discogenic pain through 12 months[J]. Stem Cells, 2015, 33(1): 146-156.

[33] Elabd C, Centeno CJ, Schultz JR, et al. Intra-discal injection of autologous, hypoxic cultured bone marrow-derived mesenchymal stem cells in five patients with chronic lower back pain: a long-term safety and feasibility study[J]. J Transl Med, 2016, 14: 253.

[34] Ding DC, Chang YH, Shyu WC, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells: a new era for stem cell therapy[J]. Cell Transplant, 2015, 24(3): 339-347.

[35] Kumar H, Ha DH, Lee EJ, et al. Safety and tolerability of intradiscal implantation of combined autologous adipose-derived mesenchymal stem cells and hyaluronic acid in patients with chronic discogenic low back pain: 1-year follow-up of a phase I study[J]. Stem Cell Res Ther, 2017, 8(1): 262.

[36] Millecamps M, Czerminski JT, Mathieu AP, et al. Behavioral signs of axial low back pain and motor impairment correlate with the severity of intervertebral disc degeneration in a mouse model[J]. The Spine Journal, 2015, 25(12): 2524-2537.

[37] Lai A, Moon A, Purmessur D, et al. Assessment of functional and behavioral changes sensitive to painful disc degeneration[J]. Journal of Orthopaedic Research, 2015, 33(5): 755-764.

[38] Olmarker K. Puncture of a lumbar intervertebral disc induces changes in spontaneous pain behavior: an experimental study in rats[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2008, 33(8): 850-855.

(收稿日期: 2017-06-06)

广告目录

1. 国药集团精方(安徽)药业股份有限公司	
颈舒颗粒	封二
2. 广东省医药进出口公司珠海公司	
同息通	彩插一
3. 颈复康药业集团有限公司	
腰痛宁胶囊	彩插二
4. 陕西盘龙药业集团股份有限公司	
盘龙七片	封三
5. 贵州益佰制药股份有限公司	
金骨莲胶囊	封四