

健腰强脊方对腰椎不稳诱导椎间盘退变小鼠模型的影响

杨佳凡^{1,2} 薛纯纯² 赵福来² 刘爽² 薛永鹏^{1,2} 杜文岚²
李灵星² 宋敏¹ 施杞² 李晓锋^{2△}

[摘要] 目的:观察健腰强脊方对腰椎不稳诱导椎间盘退变小鼠模型的影响。方法:8 周龄 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠 30 只,随机分为假手术组、模型组及健腰强脊方组,每组各 10 只。模型组小鼠行腰椎不稳(LSI)手术,健腰强脊方组在模型组的基础上给予健腰强脊方(生药 2.94 g/mL)灌胃干预;假手术组和模型组则给予 0.9%生理盐水灌胃。干预 8 周后,获得各组小鼠腰椎组织,进行苏木精-伊红染色和番红 O-固绿染色观察椎间盘形态,并进一步分析椎间盘高度和软骨终板钙化及缺损情况;免疫组织化学染色分析软骨终板 Col II、Col X 及 MMP-9 的表达水平。结果:苏木精-伊红染色和番红 O-固绿染色显示,腰椎不稳术后椎间盘高度显著下降(147 ± 74) μm ,软骨终板钙化面积明显增多,差异有统计学意义($P < 0.01$);健腰强脊方干预后椎间盘高度显著增加(96 ± 21) μm ,软骨终板钙化面积明显减少,差异有统计学意义($P < 0.05$)。免疫组织化学染色分析结果显示,软骨终板 Col II 表达显著升高,Col X 和 MMP-9 蛋白表达降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论:健腰强脊方可以改善腰椎不稳诱导椎间盘退变模型小鼠软骨终板钙化和细胞外基质降解,从而起到延缓椎间盘退变的效果。

[关键词] 椎间盘退变;健腰强脊方;软骨终板;软骨基质

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2025)04-0001-06

DOI: 10.20085/j.cnki.issn1005-0205.250401

Effect of Jianyao Qiangji Formula on a Mouse Model of Lumbar Spine Instability-Induced Intervertebral Disc Degeneration

YANG Jiafan^{1,2} XUE Chunchun² ZHAO Fulai² LIU Shuang² XUE Yongpeng^{1,2}
DU Wenlan² LI Lingxing² SONG Min¹ SHI Qi² LI Xiaofeng^{2△}

¹ Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;

² Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China.

Abstract Objective: To observe the effect of Jianyao Qiangji formula on a mouse model of lumbar spine instability (LSI)-induced intervertebral disc degeneration (IVDD). **Methods:** Thirty 8-week-old C57BL/6J male mice were randomly divided into the sham group, model group and Jianyao Qiangji formula group. Mice in model group and Jianyao Qiangji formula group were performed with LSI surgery. The Jianyao Qiangji formula group was given the Jianyao Qiangji formula (raw herb 2.94 g/mL) by gavage while the sham group and the model group were given 0.9% saline gavage. After 8 weeks of

intervention, the lumbar spine tissues of mice in each group were collected. Hematoxylin-Eosin (HE) staining and Safranine O-Fast Green staining were performed to observe the morphology of the intervertebral discs, the height of the intervertebral discs, and the calcification defects of the cartilage endplates. Besides, the expression level of Col II, Col X, and MMP-9 was detected by immunohistochemical staining. **Results:** The histomorphological observation of HE and Safranine O-Fast Green staining showed that the height of intervertebral discs decreased significantly by (147 ± 74) μm

基金项目:国家自然科学基金项目(82374473, 81973881)

上海医学创新发展基金会未来计划项目(WLJH2021ZY-GZS001, WLJH2021ZY-ZLZX001, WLJH2021ZY-MZY034, WL-XJRY-2021003K, WLJH2022ZY-ZYY001)
甘肃省中医药研究中心 2022—2023 年开放课题
(zyzx-2023-14)

¹ 甘肃中医药大学(兰州, 730000)

² 上海中医药大学附属市中医医院

[△]通信作者 E-mail: lixiaofeng0409@163.com

after LSI surgery ($P < 0.01$), and the calcification area of cartilage endplate increased significantly ($P < 0.01$). After the intervention of Jianyao Qiangji formula, the height of intervertebral discs increased significantly by $(96 \pm 21) \mu\text{m}$ ($P < 0.05$), and the calcification area of cartilage endplate was reduced ($P < 0.05$). Immunohistochemical results showed that the expression of Col II of cartilage endplate was significantly increased ($P < 0.001$), and the expression of Col X and MMP-9 protein was decreased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Jianyao Qiangji formula can ameliorate cartilage endplate calcification, inhibit extracellular matrix degradation in LSI-induced IVDD mice, and thus delay intervertebral disc degeneration.

Keywords: intervertebral disc degeneration; Jianyao Qiangji formula; cartilaginous endplate; cartilage matrix

椎间盘退变(Intervertebral Disc Degeneration, IVDD)是腰椎退变性疾病的主要病理变化,被认为是导致腰痛的主要原因之一^[1]。根据《柳叶刀》的统计数据显示,高达84%的腰痛患者是由椎间盘退变所引起的^[2]。由于生活、工作方式的改变及人口老龄化的到来,腰椎间盘突出性疾病的发病率呈指数增长^[3-4],已成为我国日益严峻的公共卫生问题。因此,早期防治椎间盘退变具有重要的临床意义。

椎间盘由髓核、纤维环和软骨终板三种主要结构组成,其中,髓核和纤维环共同提供弹性并维持椎间盘高度,软骨终板则负责为椎间盘提供必要的营养物质交换,以上这三种结构对于保持椎间盘的形态和力学功能至关重要^[5-6]。椎间盘本身并无血管分布,其营养主要来自纤维环外周及软骨终板弥散通路途径获得^[7]。一旦软骨终板正常结构发生改变,将会直接影响椎间盘的整体营养供应,进而加重椎间盘的退变^[8],因此,软骨终板在椎间盘中占据重要地位。目前针对椎间盘退变尚无有效的治疗药物,但是中医药在延缓椎间盘退变方面疗效显著^[9-10]。研究发现中药复方干预椎间盘退变动物模型,有延缓椎间盘退变和保护椎间盘的作用^[11-13]。

健腰强脊方是在国医大师施杞教授指导下,本院骨伤科李晓锋主任医师治疗椎间盘退变性疾病常用的临床经验方,临床已取得良好的治疗效果,但其具体作用机制尚不明确,需要进一步研究探索。本研究构建腰椎不稳诱发椎间盘退变小鼠模型^[14],初步探究健腰强脊方治疗椎间盘退变的机制,为其临床应用提供依据,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物

8周龄SPF级C57BL/6J雄性小鼠30只,购自上海杰思捷实验动物有限公司(动物生产许可证号为SCXK(沪)2018-0004),于上海中医药大学附属中医医院动物中心饲养,饲养室温度为 $20 \sim 26^\circ\text{C}$,湿度为 $40\% \sim 70\%$,维持12 h光照/12 h黑暗的光照周期,所有动物自由进水和进食。动物实验方案经上海中医药大学附属中医医院实验动物伦理委员会审查通过,伦理批件号为2022021。

1.2 实验药物及试剂

健腰强脊方由《医宗金鉴》圣愈汤合《伤寒论》附子汤加减化裁而成,药物组成如下:黄芪、熟附片、当归、川芎、党参、茯苓、白芍、熟地、防己、独活、柴胡。上述中药饮片均购自上海中医药大学附属中医医院药剂科。Fast Green FCF(美国Sigma公司, F7252), Safranin O(美国Sigma公司, S2255), 苏木精(美国Sigma公司, H3136-25G), 伊红(美国Sigma公司, E4009), EDTA脱钙液(武汉赛维尔生物科技有限公司, G1105, 500 mL), TRAP染色试剂盒(日本Wako公司, 294-67001), 柠檬酸钠抗原修复液(上海碧云天生物技术有限公司, P0081), 免疫组化试剂盒(北京中杉金桥生物技术公司, PV-9001), 抗体稀释液(北京中杉金桥生物技术公司, ZLI-9030), DAB显色(北京中杉金桥生物技术公司, ZLI-9018), 胰蛋白酶抗原修复液(北京雷根生物科技有限公司, IH0310), Anti-Collagen II抗体兔多克隆抗体(美国Abcam公司, ab34712), Anti-Collagen X抗体兔多克隆抗体(美国Abcam公司, ab58632), Anti-MMP-9抗体兔多克隆抗体(美国Abcam公司, ab38898)。

1.3 实验仪器

高速低温离心机(德国Eppendorf公司, 5425R), 光学显微镜(德国LEICA, DM6B), 轮转式切片机(赛默飞世尔(上海)仪器有限公司, HM325), 摊片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司, KD-P), 电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司, DHG-9053A), 电热恒温培养箱(上海博迅实业有限公司医疗设备厂, GSP-9160MBE)。

1.4 方法

1.4.1 分组方法 将30只C57BL/6J雄性小鼠称重后按体重排序编号, 从随机数字表中选取30个连续2位数记录在小鼠编号下面, 再将30个随机数字从小到大排序, 随机数字排序1~10对应的小鼠纳入假手术组, 11~20对应的小鼠纳入模型组, 21~30对应的小鼠纳入健腰强脊方组。

1.4.2 造模方法 腰椎不稳模型是经典的诱发椎间盘退变的模型。按照文献^[14]报道, 采用0.5%戊巴比妥钠(25 mg/kg)进行腹腔注射麻醉, 小鼠角膜反射

消失,麻醉成功后,背部皮肤备皮,触摸腰椎处皮下棘突,确定腰椎区,碘伏消毒,沿脊柱方向向下纵向切开皮肤,剥离筋膜,分离 L_{3~5} 腰椎两侧竖脊肌,暴露小鼠 L_{3~5} 腰椎棘突,切除 L_{3~5} 节段的棘突及韧带,进行逐层缝合,碘伏再次消毒缝合处皮肤。假手术组仅分离两侧竖脊肌,不对棘突及棘上、棘间韧带进行切除。

1.4.3 药物制备及干预方法 取健腰强脊方全方 147 g 饮片,加入 10 倍量水(即 1 470 mL),浸泡 30 min 后,大火煮沸,再小火煎煮 15 min,此为第 1 次煎煮。再加入 10 倍量水(即 1 470 mL),进行第 2 次煎煮。混合两次药液,浓缩至浓度为生药 2.94 g/mL,置于 4 ℃ 下保存。腰椎不稳术后第 3 天开始干预。按人体等效剂量倍数换算^[15],健腰强脊方组给药剂量为生药 2.94 g/mL,假手术组和模型组给予等体积的生理盐水灌胃,共干预 8 周。

1.4.4 标本制作方法 药物干预结束后,各组小鼠均腹腔注射过量戊巴比妥钠处死,取小鼠 L_{3~6} 段脊柱标本,4%多聚甲醛固定,24 h 后转为 10% EDTA 进行脱钙处理,脱钙 4 周后进行组织脱水及石蜡包埋。取各组蜡块行冠状位连续切片,切片厚度为 4 μm,以椎间盘髓核最大处为中央部位的标准选片,用于苏木精-伊红染色、番红 O-固绿染色及免疫组织化学染色。

1.5 实验指标测定

1.5.1 小鼠椎间盘组织病理学观察 苏木精-伊红染色:取各组椎间盘组织切片,进行常规脱蜡、复水后,经苏木精染液染核、氨水返蓝、伊红染液染胞质,最后常规脱水、透明后封片。

番红 O-固绿染色:常规脱蜡、复水后,分别经苏木精染液、盐酸乙醇分化、1%冰醋酸快速浸润、0.2%固绿染液、1%冰醋酸快速漂洗、0.1%番红 O 染液,最后常规脱水、透明后封片。

于光学显微镜下观察并采集 L_{4/5} 椎间盘组织图像^[16],用 Image J 图像处理软件测量椎间盘高度(椎间盘面积/椎间盘宽度)、软骨终板钙化面积。

1.5.2 小鼠椎间盘组织免疫组化检测 取各组椎间盘组织切片,进行常规脱蜡、复水后,经 0.1%胰蛋白酶 37 ℃ 修复 20 min,PBS 清洗,按照免疫组化试剂盒

(北京中杉金桥生物技术公司,PV-9001)说明书进行操作,加入 Col II、Col X、MMP-9 抗体 4 ℃ 孵育过夜,次日加入二抗室温孵育 20 min 后,再 DAB 显色,如有阳性着色,立即终止显色,再经苏木精复染、盐酸乙醇分化氨水返蓝,常规脱水透明后封片。阳性结果判断:染色阳性表达为棕色,无着色为阴性。于光学显微镜下观察并采集 L_{4/5} 椎间盘组织图像中 Col II、Col X、MMP-9 表达情况,并用 Image J 图像处理软件测量阳性细胞数,进行定量分析。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 26.0 统计软件分析所得实验数据。用 Image J 图像处理软件处理组织图像,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示。各组间比较采用 ANOVA 单因素方差分析, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠椎间盘组织病理染色结果比较

苏木精-伊红染色结果显示:假手术组小鼠椎间盘软骨终板形态结构完整清晰;与假手术组小鼠相比,模型组小鼠椎间盘高度显著下降(147 ± 74) μm,差异有统计学意义($P < 0.01$),且软骨终板出现大面积钙化及缺损;健腰强脊方干预后,与模型组小鼠相比,小鼠椎间盘高度改善明显,显著增高(96 ± 21) μm,差异有统计学意义($P < 0.05$),且软骨终板钙化及缺损明显改善(见图 1 及表 1),提示健腰强脊方能够改善腰椎不稳小鼠的椎间盘高度的下降。

番红 O-固绿染色结果显示:假手术组小鼠椎间盘形态结构完整,软骨终板形态结构清晰可见,红绿对比明显(软骨组织呈红色,骨组织呈绿色);与假手术组小鼠相比,模型组小鼠椎间盘软骨终板部位出现固绿染色,表示软骨终板部分被骨组织所代替,模型组小鼠椎间盘软骨终板钙化及缺损面积明显增多,差异有统计学意义($P < 0.01$)。健腰强脊方干预后,与模型组小鼠相比,小鼠椎间盘软骨终板钙化及缺损面积明显减少(见图 2 及表 1),差异有统计学意义($P < 0.05$),提示健腰强脊方能够有效改善腰椎不稳小鼠椎间盘软骨终板钙化及缺损情况,延缓软骨终板退变。

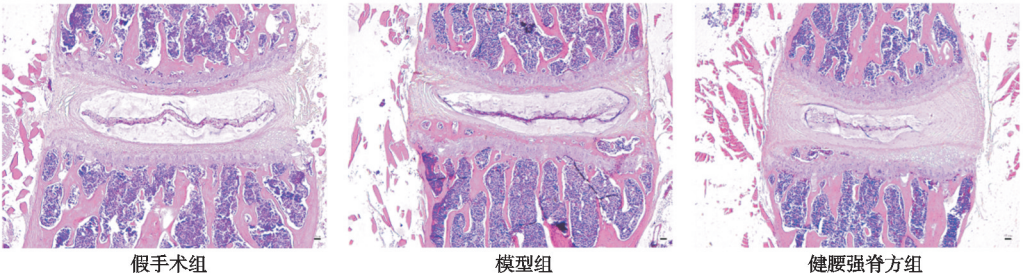


图 1 各组小鼠椎间盘组织苏木精-伊红染色结果(×50)

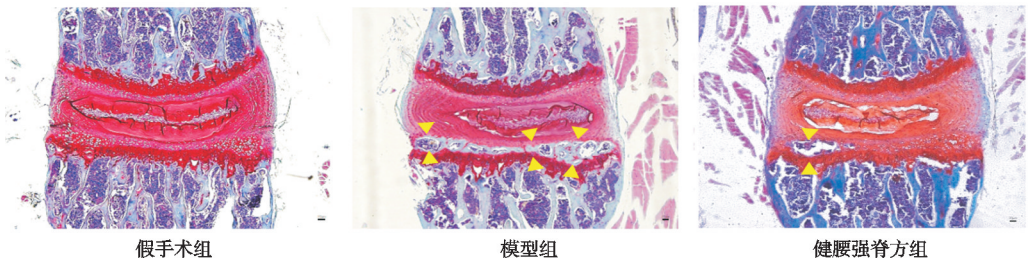


图2 各组小鼠椎间盘组织番红 O-固绿染色结果(×50,黄色箭头指向软骨终板钙化及缺损区域)

表1 各组小鼠椎间盘高度和软骨终板钙化面积比较($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	椎间盘高度/mm	软骨终板钙化面积/mm ²
假手术组	0.797±0.040	0.030±0.015
模型组	0.651±0.034 ¹⁾	0.136±0.019 ¹⁾
健腰强脊方组	0.747±0.014 ²⁾	0.058±0.040 ²⁾

注:1)与假手术组比较, $P<0.01$;2)与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.2 各组小鼠椎间盘组织免疫组化染色结果比较

Col II 免疫组化染色结果显示:与假手术组小鼠相比,模型组小鼠椎间盘软骨终板 Col II 阳性表达明显降低,约为假手术组的 1/3,差异有统计学意义($P<0.001$);健腰强脊方干预后,与模型组小鼠相比,小鼠椎间盘软骨终板 Col II 阳性表达明显增加,约为模型组的 3 倍(见图 3 和图 4),差异有统计学意义($P<0.001$),说明健腰强脊方能够明显增加椎间盘软骨终板 Col II 的表达。

Col X 免疫组化染色结果显示:与假手术组小鼠相比,模型组小鼠椎间盘软骨终板 Col X 阳性表达明显增加,差异有统计学意义($P<0.01$);健腰强脊方干预后,与模型组小鼠相比,小鼠椎间盘软骨终板 Col X 阳性表达降低(见图 4 和图 5),差异有统计学意义($P<0.05$),说明健腰强脊方能够明显减少椎间盘软骨终板 Col X 的表达,并抑制软骨细胞肥大。

MMP-9 免疫组化染色结果显示:与假手术组小鼠相比,模型组小鼠椎间盘软骨终板 MMP-9 阳性表达明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$);健腰强脊方干预后,与模型组小鼠相比,小鼠椎间盘软骨终板 MMP-9 阳性表达降低(见图 4 和图 6),差异有统计学意义($P<0.05$),说明健腰强脊方能够明显减少椎间盘软骨终板 MMP-9 的表达,改善细胞外基质降解。

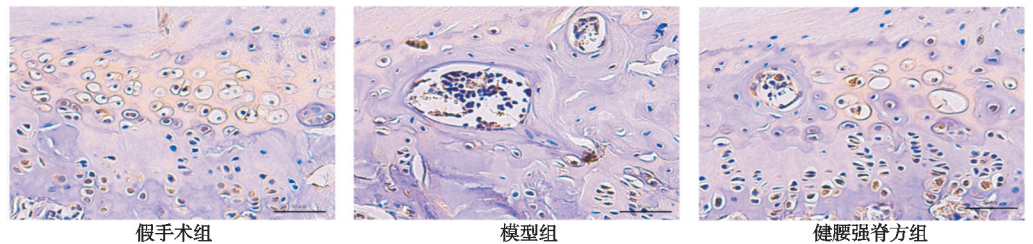
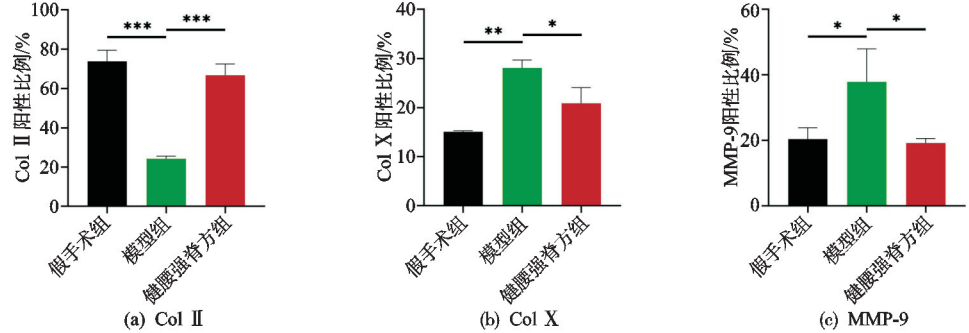


图3 各组小鼠椎间盘软骨终板组织 Col II 免疫组化染色结果(×400)



注: (a) 与假手术组比较, *** $P<0.001$; 与模型组比较, *** $P<0.001$ 。 (b) 与假手术组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, * $P<0.05$ 。 (c) 与假手术组比较, * $P<0.05$; 与模型组比较, * $P<0.05$ 。

图4 椎间盘软骨终板组织 Col II、Col X 及 MMP-9 阳性表达定量统计图

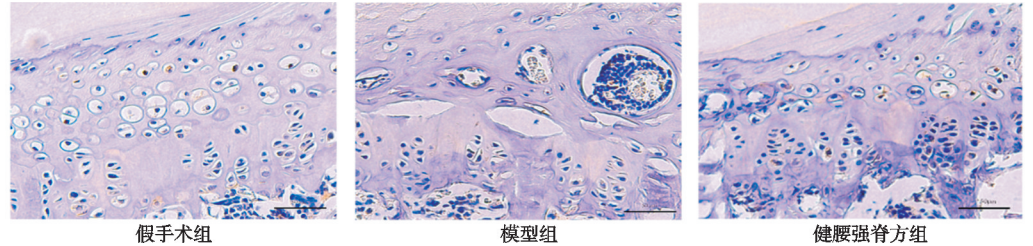


图5 各组小鼠椎间盘软骨终板组织 Col X 免疫组化染色结果(×400)

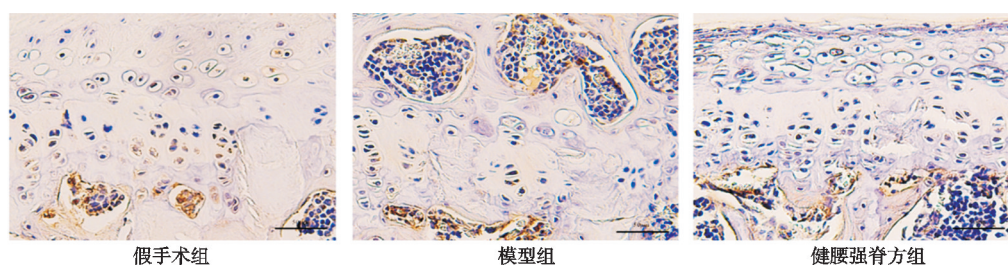


图 6 各组小鼠椎间盘软骨终板组织 MMP-9 免疫组化染色结果(×400)

3 讨论

首先,椎间盘退变是由多因素导致的过程,其特征是椎间盘的细胞外基质(Extracellular Matrix, ECM)代谢失衡,导致内在组成结构改变,进而椎间盘水分丢失,表现为椎间盘高度降低,软骨终板出现钙化及缺损等现象。

中医学认为腰椎间盘突出性疾病属“腰痹病”范畴。通过临床观察,笔者认为发病以肾精亏虚、气血失养为本,风寒湿邪侵袭致脉络闭阻,气血不通为标;辨证主要以寒湿痹阻,脾肾阳虚为主;治法大法以活血通络,温补脾肾为要。健腰强脊方是在国医大师施杞教授指导下,本院骨伤科李晓锋主任医师治疗椎间盘退变性疾病常用的临床经验方,由《医宗金鉴》圣愈汤合《伤寒论》附子汤加减化裁而成,具体组成为黄芪、熟附片、当归、川芎、党参、茯苓、白芍、熟地、防己、独活、柴胡。方中黄芪、熟附片温补脾肾共为君药。当归、川芎温通血脉,补血活血;党参、茯苓相配健脾以渗湿;白芍和营敛阴,熟地滋阴填精,两药相配可收阳气归根于阴,作为引和;以上六药共为臣药,起健脾补肾活血之功。防己利水消肿止痛,独活祛风除湿,散寒止痛,两药相佐起到祛痹通络之功;柴胡疏解瘀滞,化瘀散结。诸药配伍,共奏“温补脾肾,活血通络”之效,从而能治疗椎间盘退变性疾病。

软骨终板主要由 Col II、蛋白多糖和水组成,其表面布满了微小的孔隙,这些孔隙允许内外物质的交换,从而实现椎间盘的正常代谢活动过程^[17]。Col II 主要由软骨细胞产生,是细胞外基质的主要成分^[18],Col II 与弹性蛋白以及蛋白多糖相互交织形成网状结构的高分子蛋白质,具有一定的机械强度^[19]。当发生椎间盘退变时,Col II 的表达会降低^[20]。Col X 主要在椎间盘软骨终板中表达,它是一种独特的肥大标志物^[21]。其蛋白链上有钙离子结合位点,可在软骨内骨化过程中发挥作用。当发生椎间盘退变时,椎间盘软骨终板上 Col X 阳性表达则会明显上调^[22]。基质金属蛋白酶(Matrix Metalloproteinase, MMPs)是降解胶原蛋白和聚集聚糖的主要酶^[18]。有研究发现^[23]基质金属蛋白酶参与细胞外基质的分解,细胞外基质分解和椎间盘退变过程密切相关,MMP-9 是其中常见的一种酶,在降解细胞外基质中起重要作用,当发生椎间盘退

变时,椎间盘软骨终板中 MMP-9 表达则会明显上调。

本研究采用经典的腰椎不稳诱导椎间盘退变小鼠模型,并在给予健腰强脊方干预后,选用 Col II、Col X 及 MMP-9 作为观察指标,旨在观察用药前后各项指标蛋白的变化,以进一步探究健腰强脊方延缓椎间盘退变的作用机制。

本实验结果表明:1)苏木精-伊红染色结果和番红 O-固绿染色结果显示,模型组椎间盘高度较假手术组显著下降,同时椎间盘软骨终板出现钙化及缺损现象,这提示本实验造模成功;健腰强脊方组椎间盘高度明显高于模型组,且椎间盘软骨终板钙化面积明显减少,这表明健腰强脊方在治疗椎间盘退变性疾病疗效明显。2)Col II 免疫组化染色结果显示,模型组椎间盘软骨终板 Col II 阳性表达较假手术组明显降低,约为假手术组的 1/3;健腰强脊方组椎间盘软骨终板 Col II 阳性表达则明显高于模型组,约为模型组的 3 倍。Col X 及 MMP-9 免疫组化染色结果显示,模型组椎间盘软骨终板 Col X 及 MMP-9 阳性表达明显高于假手术组;健腰强脊方组椎间盘软骨终板 Col X 及 MMP-9 阳性表达明显低于模型组,表明健腰强脊方可能有助于恢复软骨终板细胞外基质代谢的平衡,并对维持软骨终板形态发挥积极作用。

综上所述,健腰强脊方能够有效改善腰椎不稳小鼠的椎间盘高度的下降,同时改善软骨终板钙化和缺损情况,促进椎间盘软骨终板 Col II 的表达,并抑制 Col X 及 MMP-9 的表达,其机制可能与改善软骨基质代谢进而改善椎间盘营养,从而延缓椎间盘退变有关。然而具体通过何种分子机制及信号通路来改善软骨终板钙化并不明确,本课题组后续将进一步深入研究,为椎间盘退变性疾病的临床治疗提供实验依据。

参考文献

- [1] TAO S, SHEN Z, CHEN J, et al. Red light-mediated photoredox catalysis triggers nitric oxide release for treatment of cutibacterium acne induced intervertebral disc degeneration[J]. ACS Nano, 2022, 16(12): 20376-20388.
- [2] MAHER C, UNDERWOOD M, BUCHBINDER R. Non-specific low back pain[J]. Lancet, 2017, 389(10070): 736-747.
- [3] VIDEMAN T, BATTIE M C, GIBBONS L E, et al. A new quantitative measure of disc degeneration[J]. Spine J,

- 2017,17(5):746-753.
- [4] JACKSON T, THOMAS S, STABILE V, et al. Prevalence of chronic pain in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet*, 2015, 385(Suppl 2): S10.
 - [5] KIRNAZ S, CAPADONA C, WONG T, et al. Fundamentals of intervertebral disc degeneration[J]. *World Neurosurg*, 2022, 157: 264-273.
 - [6] NEIDLINGER-WILKE C, GALBUSERA F, PRATSINIS H, et al. Mechanical loading of the intervertebral disc: from the macroscopic to the cellular level[J]. *Eur Spine J*, 2014, 23(Suppl 3): S333-S343.
 - [7] ZHU Q, GAO X, LEVENE H B, et al. Influences of nutrition supply and pathways on the degenerative patterns in human intervertebral disc[J]. *Spine (Phila Pa)*, 2016, 41(7): 568-576.
 - [8] 曹旺烽, 陈长贤. 椎间盘软骨终板退变的研究进展[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2016, 24(10): 70-74.
 - [9] 施杞, 王拥军, 周重建, 等. 气血理论在延缓椎间盘退变过程的运用与发展[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2006, 14(S2): 190-192.
 - [10] 王拥军, 梁倩倩, 崔学军, 等. 调和气血法防治慢性筋骨病的应用与发展[J]. *上海中医药杂志*, 2017, 51(6): 1-4.
 - [11] 孙凯, 魏戌, 朱立国, 等. 壮腰通络方对腰椎间盘突出性病变大鼠病理变化及血清炎症因子表达的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2022, 29(7): 93-98.
 - [12] 沈兴潮, 夏炳江, 韦金忠, 等. 五福饮对椎间盘退变大鼠模型血清及椎间盘炎性因子表达的影响[J]. *中国中医药科技*, 2020, 27(4): 525-528.
 - [13] 杨光露, 郭杨, 马勇, 等. 扶阳宣痹汤对大鼠椎间盘退变及基质金属蛋白酶表达的影响[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2021, 29(4): 1-7.
 - [14] 付方达, 邵晶奕, 童培建, 等. 脊柱轴线力学失稳诱导椎间盘退变小鼠模型的建立及评价[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2020, 28(1): 1-7.
 - [15] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004(9): 1069-1072.
 - [16] LIU S, SUN Y, DONG J, et al. A mouse model of lumbar spine instability[J]. *J Vis Exp*, 2021, 170: 61722.
 - [17] MOON S M, YODER J H, WRIGHT A C, et al. Evaluation of intervertebral disc cartilaginous endplate structure using magnetic resonance imaging[J]. *Eur Spine J*, 2013, 22(8): 1820-1828.
 - [18] WANG W J, YU X H, WANG C, et al. MMPs and ADAMTSs in intervertebral disc degeneration[J]. *Clin Chim Acta*, 2015, 448: 238-246.
 - [19] LI X, YANG S, QIN L, et al. Type II collagen-positive embryonic progenitors are the major contributors to spine and intervertebral disc development and repair[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2021, 10(10): 1419-1432.
 - [20] LIU S, YANG S D, HUO X W, et al. 17 β -estradiol inhibits intervertebral disc degeneration by down-regulating MMP-3 and MMP-13 and up-regulating type II collagen in a rat model[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(sup2): 182-191.
 - [21] LAKSTINS K, YEATER T, ARNOLD L, et al. Investigating the role of culture conditions on hypertrophic differentiation in human cartilage endplate cells[J]. *J Orthop Res*, 2021, 39(6): 1204-1216.
 - [22] DU J, XU M, KONG F, et al. CB2R attenuates intervertebral disc degeneration by delaying nucleus pulposus cell senescence through AMPK/GSK3 β pathway[J]. *Aging Dis*, 2022, 13(2): 552-567.
 - [23] LI L, WEI K, DING Y, et al. M2a macrophage-secreted CHI3L1 promotes extracellular matrix metabolic imbalances via activation of IL-13R α 2/MAPK pathway in rat intervertebral disc degeneration[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 666361.

(收稿日期: 2024-10-12)