·研究快报·

大鼠腰椎侧后方入路节段失稳模型的建立及初步结果

吴 晗,孙亚澎,侯丽媛,李佳奇,郭 磊,张 为*
(河北医科大学第三医院脊柱外科,河北 石家庄 050051)

[摘要] **目的** 建立大鼠腰椎侧后方入路节段失稳模型并利用影像学方法进行评价。**方法** 取健康 4 月龄 SD(Sprague-Dawley)大鼠 10 只,均经腰椎侧后方入路,距后正中线 8 mm 纵行切口,沿肌间隙钝性分离,暴露 L_5 水平关节突与横突及 $L_{4\sim5}$ 椎间隙,进行针刺椎间盘及上关节突的切除。于术后 8 周行腰椎间盘 CT、MRI 影像学检查。**结果** 术后 8 周影像学改变较为明显,椎间盘退变显著,可见椎体边缘骨赘形成,曲度变直,部分出现脊柱侧弯。**结论** 大鼠腰椎侧后方入路节段失稳模型的建立取得良好的初步结果,具有较高的可重复性。

[关键词] 椎间盘退行性变;腰椎失稳;模型,动物 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2024.01.004
[中图分类号] R681.5 [文献标志码] A [文章编号] 1007-3205(2024)01-0013-04

随人口老龄化日益加重,腰椎间盘退变性疾病在中老年人群存在极为普遍,严重影响患者的生活质量,造成了大量医疗资源的浪费。椎间盘退变机制繁杂多样,而腰椎节段稳定性下降或丢失是腰椎退变性疾病发生、发展的重要促进因素。在脊柱退变进程的中晚期,机体所发生的一些特征性改变可减缓稳定性的丢失甚至重建节段的稳定性,如椎间盘退变、椎间隙塌陷、终板硬化、椎体侧方骨赘形成等等。临床研究发现:这几种因素往往同时并存、相互影响[1-2]。目前在基础研究领域,尚缺乏一种理想的动物模型,能够全面模拟失稳与退变交互影响的脊柱退变模型,因此建立一种以椎间盘退变,终板硬化,骨赘形成为特征的节段退变模型对于研究脊柱退变机制具有深远和重大的意义。研究发现关节突关节与椎间盘为脊柱生物力学的重要组成部分,且二者往往相互影响,因此提供了此次实验的理论基础即破坏关节突关节以及损伤椎间盘进而诱导腰椎节段失稳[3-4]。本研究设计采用成本低廉的大鼠做为实验动物,引入侧后方微创肌间隙入路理念,结合侧方处理椎间隙的手术技巧,建立一种手术创伤微小、严格模拟椎间盘退变及脊椎不稳的动物模型,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选取健康成年 SD 大鼠(SPF 级)10 只,雄性,4 个月龄,平均体重(300±50)g,由河北医科大学第三医院动物中心提供。实验期间,动物在标准条件下饲养,昼夜交替各为 12 h,室温控制在 25 ℃并提供充足的食物以及饮用水。将选取的 10 只 SD 大鼠均经右后外侧微创肌间隙入路,于术后 8 周行影像学检查。

本实验研究经河北医科大学第三医院动物伦理委员会批准(Z2023-026-1)。

1.2 手术过程 ①麻醉准备:取 SD 大鼠行气麻机面罩吸入麻醉,术中吸入异氟烷麻醉大鼠。通过对尾部、耳廓或下肢按压的反应来评估麻醉深度并根据需要调节流量。②术前标记,消毒铺单:麻醉成功后,取俯卧位固定大鼠,腰背部剃毛备皮 4 cm×6 cm,清洁后根据大鼠髂嵴体表位置定位 $L_{4\sim5}$ 椎间隙并划线标记,聚维酮碘消毒后铺单(图 1)。③逐层切开,术野显露:触摸髂嵴以再次确定脊柱节段水平,大鼠髂嵴平 L_6 棘突,上滑一个棘突,沿术前标记线(脊柱后正中线向右旁开 8 mm 纵行切口长约 4 cm),依次锐性切开皮肤、浅筋膜、深筋膜,顺肌间隙钝性分离椎旁肌肉及组织,暴露 $L_{4\sim5}$ 关节突关节、横突及椎体侧方(图 2)。④切除关节突,处理椎间盘:术野显露清晰后,使用眼科剪去除上关节突以制造节段性失稳,咬除 L_5 横突后显露 $L_{4\sim5}$ 前外侧纤维环,呈乳白色。术中调整体位为左侧卧位,钝性分离椎体周围组织寻找椎体前缘,自制骨膜起子向上翻转椎体暴露椎间盘。神经拉钩牵拉神经根,避

[收稿日期]2023-11-27
[基金项目]河北省重点研发计划项目(22377708D)
[作者简介]吴晗(2000-),男,河北邢台人,河北医科大学第三医院医学硕士研究生,从事脊柱外科疾病诊治研究。
* 通信作者。E-mail:zhangweiat430@sina.com

免神经损伤，使用21G号注射针[5]进行$L_{4\sim5}$椎间盘穿刺，旋转一周停留30 s后拔出穿刺针（图3A、3B、3C）。⑤关闭切口，逐层缝合：生理盐水冲洗伤口，采用4-0尼龙缝合线逐层缝合肌肉层、深筋膜、浅筋膜及皮肤，聚维酮碘消毒皮肤，纱布包扎（图4）。术后为防止感染予以腹腔注射8 U青霉素钠，连续3 d。术后严密观察大鼠精神状态，饮食情况，以及是否存在二便障碍、肢体瘫痪及切口感染。

1.3 影像学评估 于术后8周，被检大鼠以10%水合氯醛（3 mL/kg）腹腔注射全身麻醉分别行CT、MRI观察。

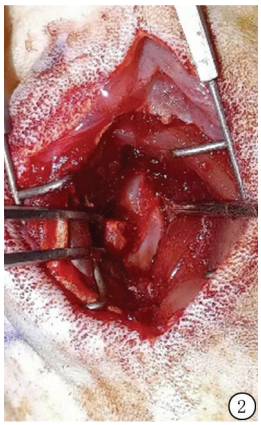
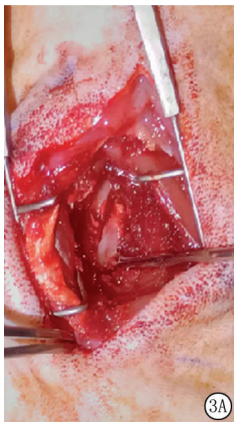
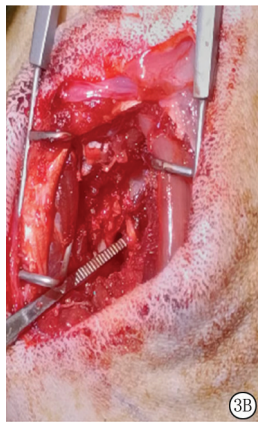
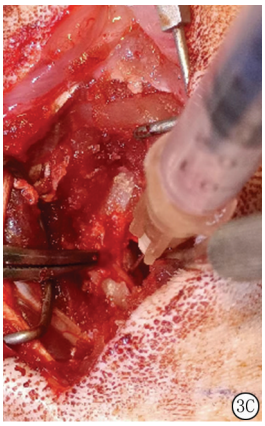







图1 体表划线

图2 暴露侧方关节突关节、横突

图3 手术步骤

A.关节突切除；B.去除横突、牵拉神经根；C.针刺椎间盘

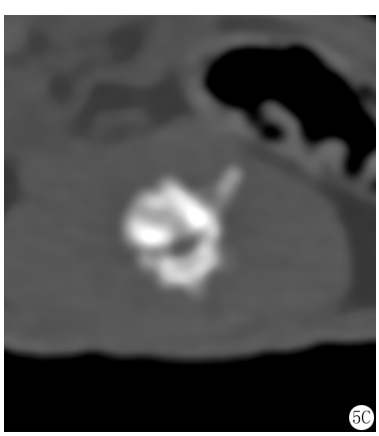
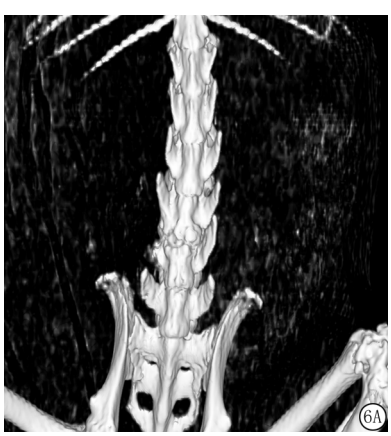
图4 逐层缝合

2 结 果

2.1 大鼠CT 检测可见大鼠腰椎生理曲度变直，手术椎间隙均出现明显改变，出现椎体序列不齐及椎体侧方明显骨赘形成，可见椎体前缘出现唇样增生，软骨终板钙化以及明显的脊柱侧弯及腰椎滑脱（图5A、5B、5C）。CT三维重建后更为直观观察上述改变（图6A、6B）。

2.2 大鼠MRI 检测可见全部大鼠手术阶段严重的椎间盘退变征象，T2WI信号强度重度减低，高强度信号区缺如，更有甚者呈完全低信号，部分可见椎间盘向后突出，挤压硬膜囊（图7）。



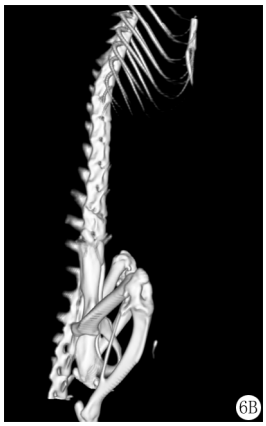
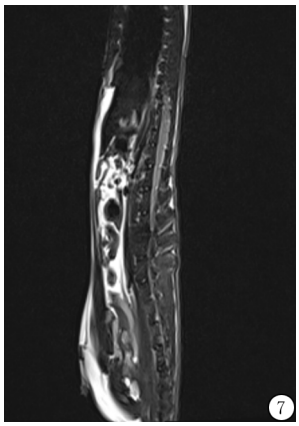



图5　CT平扫

A.冠状位；B.矢状位；C.横断位

图6　三维重建

A.冠状位；B.矢状位

图7　MRI T2WI矢状位椎间盘信号显著降低，呈完全低信号，椎间盘凸出，挤压硬膜囊

3　讨　论

椎间盘退变是受多种因素共同影响所形成的复杂性疾病，为了深入探讨椎间盘退变的病因、病理生理机制及治疗策略，十分有必要建立类似人类椎间盘退变的动物实验模型。椎间盘退变是一个漫长复杂的过程，学者们通过不同的实验方式建立模拟人体脊柱失稳、椎间盘退变的动物模型。目前大鼠常用造模方式－经腹侧针刺椎间盘，尾部针刺椎间盘，后路关节突关节的切除，大多损伤较大或施加影响因素较为单一。Zhang等[6－7]经腹侧前路针刺椎间盘，但需打开腹腔并牵拉脏器，毗邻重要血管，操作较为复杂，损伤较大。Issy等[8－9]建立了针刺大鼠尾部椎间盘动物模型，该方法操作简单损伤较小，但大鼠尾部并无应力影响，无法严格模拟人体力学环境。Oichi等[10]尝试经后正中入路去除双侧关节突，横断棘上韧带和棘间韧带造成脊柱失稳，但损伤较大且造模时间较长。因此我们采取改进的脊椎后外侧肌间隙入路，在切除关节突关节的基础上可同时施加对相应节段椎间盘的干预手段，且操作简便、创伤小，存活率高，可重复性强等优点，为我们进一步观察研究椎间盘退变的病因学及病理生理机制、验证关于延缓椎间盘退变药物的有效性，提供了可靠的动物模型。

在实验过程中，除全部大鼠形成较为明显的椎间盘退变，此外与前路椎间盘退变模型不同的是其中7只大鼠形成较为明显的侧方骨赘，还有部分大鼠继发终板改变，关节突关节增生。其中继发形成的椎体侧方骨赘具有极大的研究意义，考虑可能与手术所致脊柱失稳，椎间盘破坏，髓核溢出所致的力学环境、炎症反应等有关。目前，研究表明骨赘的组织构成包括骨组织、软骨和结缔组织，而骨赘的形成主要起源于间质干细胞，其形成的诱导因素主要是关节生物力学因素、关节内生化因素以及两者的共同作用，同时有多种信号通路和细胞因子参与调控骨赘形成[3,11]，其中椎体侧方骨赘形成是机体在异常应力环境下重建稳定性的结果。椎体骨赘可以导致严重的医疗问题，但临床工作中发现椎体侧方骨赘的形成在特定条件下利大于弊，如增加椎体稳定性，增加腰椎椎间术后融合率，这也是探寻骨赘产生机制的兴趣所在[12]。以往椎体骨赘的研究相比于关节骨赘多局限于生物力学因素以及观察其形态学改变，对于其形成的病理生理机制研究较为匮乏[13]。接下来本研究将以此动物模型为基础，进一步从影像学、组织学及分子水平探讨腰椎侧方骨赘与局部应力、炎症介质、神经血管等因素的关系，以期进一步探寻其机制。

[参考文献]

[1] Pye SR, Reid DM, Lunt M, et al. Lumbar disc degeneration: association between osteophytes, end-plate sclerosis and disc space narrowing[J]. An Rheum Dis, 2007, 66(3): 330－333.

[2] Maerz T, Newton M, Marek AA, et al. Dynamic adaptation of vertebral endplate and trabecular bone following annular injury in a rat model of degenerative disc disease[J]. Spine J, 2018, 18(11): 2091－2101.

[3] 黄河，李宁宁，胡朝晖，等.纤维环穿刺法与腰椎失稳法建立椎间盘退变模型[J].中国现代医生，2011，49(16)：22－24，161.

[4] 陈飞，陆声，李娜，等.椎间盘退变模型建立的研究进展[J].中国矫形外科杂志，2022，30(9)：821－825.

[5] Elmounedi N, Bahloul W, Turki M, et al. Impact of needle size on the onset and the progression of disc degeneration in rats[J]. Pain Physician, 2022, 25(6): 509－517.

[6] Zhang L, Du G, Teng B, et al. Vascular anatomy-based localization of intervertebral discs assisting needle puncture for constructing a mouse model of mechanical injury-induced lumbar intervertebral disc degeneration [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2022, 634: 196－202.

[7] Gandhi S, Newton M, Salisbury M, et al. Technical experience and postoperative complications with repeat transperitoneal approach to the lumbar spine in female Lewis rats[J]. Lab

Anim,2021,55(1):81－87.

[8] 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.

[9] Zhu P,Kong F,Wu X,et al. A minimally invasive annulus fibrosus needle puncture model of intervertebral disc degeneration in rats[J]. World Neurosurg,2023,169:E1－E8.

[10] Oichi T,Taniguchi Y,Soma K,et al. A mouse intervertebral disc degeneration model by surgically induced instability[J]. Spine,2018,43(10):E557－E564.

[11] 鲁轩源,钱宇.骨关节炎中骨赘形成及影响因素的研究进展[C]//浙江省骨科学学术年会论文汇编.绍兴:绍兴市人民医院骨科,2016:242.

[12] Proietti L,Perna A,Ricciardi L,et al. Radiological evaluation of fusion patterns after lateral lumbar interbody fusion: institutional case series[J]. Radiol Med,2021,126(2):250－257.

[13] Van Der Kraan PM, Van Den Berg WB. Osteophytes: relevance and biology[J]. Osteoarthritis Cartilage,2007,15(3):237－244.

(本文编辑:刘斯静)