

文章编号: 1004-7220(2021)02-0224-07

# 可控压缩应力轴向诱导山羊椎间盘退变模型构建及评价

郭小惠<sup>1</sup>, 宋西正<sup>2</sup>, 韩枕学<sup>2</sup>, 曹鑫<sup>2</sup>, 康禹<sup>2</sup>, 李达明<sup>1</sup>, 康超荣<sup>1</sup>,  
盛凯<sup>2</sup>, 张浩<sup>1</sup>, 魏立林<sup>1</sup>

(1.重庆郭昌毕中医骨伤科医院 脊柱外科, 重庆 408000; 2.南华大学附属第一医院 脊柱外科, 湖南 衡阳 421001)

**摘要:**目的 构建可控压缩应力轴向诱导山羊椎间盘退变模型并评价影像及病理学特点。方法 山羊 20 只, 随机分 4 组(对照组、加压 4 周组、加压 8 周组、加压 12 周组,  $n=5$ , 压力 40 N), 利用 X 线通过椎间盘高度指数(disc height index, DHI)评价椎间盘高度的变化, 利用磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)通过 Pfirrmann 分级法观察椎间盘退变的程度, 利用 HE 染色及免疫组化对椎间盘进行组织病理学观察评估。结果 随着加压时间延长, 对照组 DHI 无明显变化, 实验组 DHI 逐渐降低; Pfirrmann 分级在对照组中无明显改变, 在实验组中随着时间的延长, Pfirrmann 分级越高, 退变程度逐渐加深; 实验组 HE 染色显示, 椎间盘髓核体积缩小、髓核细胞减少, 逐渐被纤维样组织代替。免疫组织化结果显示, 髓核内 I 型胶原蛋白逐渐增多, II 型胶原蛋白逐渐减少, 椎间盘出现退变。结论 一定的轴向压缩应力可导致山羊腰椎椎间盘退变, 随着时间延长, 退变的程度逐渐加重。

**关键词:** 压缩应力; 山羊模型; 椎间盘退变; 椎间盘高度指数

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2021.02.009

## Construction and Evaluation for Model of Goat Intervertebral Disc Degeneration Induced by Axial Compressive Stress

GUO Xiaohui<sup>1</sup>, SONG Xizheng<sup>2</sup>, HAN Zhenxue<sup>2</sup>, CAO Xin<sup>2</sup>, KANG Yu<sup>2</sup>, LI Daming<sup>1</sup>,  
KANG Chaorong<sup>1</sup>, SHENG Kai<sup>2</sup>, ZHANG Hao<sup>1</sup>, WEI Lilin<sup>1</sup>

(1. Department of Spine Surgery, Chongqing GCB Orthopedic Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 408000, China; 2. Department of Spine Surgery, the First Affiliated Hospital of South China University, Hengyang 421001, Hunan, China)

**Abstract: Objective** To establish the model of goat intervertebral disc degeneration (IDD) induced by controllable axial compressive stress and evaluate its imaging and pathological characteristics. **Methods** Twenty goats were randomly divided into 4 groups (control group, 4-week pressure group, 8-week pressure group, 12-week pressure group,  $n=5$ , 40 N pressure). Disc height index (DHI) was used to evaluate the change of intervertebral disc height by X-ray, Pfirrmann classification method was used to observe the degree of intervertebral disc degeneration by magnetic resonance imaging (MRI), and histopathological observation and evaluation for intervertebral disc were conducted by HE staining and immunohistochemistry. **Results** DHI in control group showed no significant changes with the extension of pressure time, while DHI in the experimental

收稿日期: 2020-06-25; 修回日期: 2020-07-26

基金项目: 重庆市科卫联合中医药科研基金资助重点项目(2019ZY013438), 湖南省自然科学基金面上项目(2019JJ40266)

通信作者: 宋西正, 主任医师, E-mail: belinde666@21cn.com

group gradually decreased. There was no significant change in Pfirrmann classification in control group. In experimental group, with the extension of time, the higher the degeneration aggravated with the Pfirrmann classification increasing. In experimental group, HE staining showed that the disc nucleus pulposus decreased in volume and nucleus pulposus cells, which were gradually replaced by fibrous tissues. Immunohistochemical staining showed that type I collagen in the nucleus pulposus gradually increased, type II collagen gradually decreased, and intervertebral disc degeneration occurred. **Conclusions** A certain axial compressive stress can lead to degeneration of goat lumbar intervertebral disc, and the degree of degeneration is gradually increased with the extension of time.

**Key words:** compressive force; goat model; intervertebral disc degeneration (IDD); disc height index (DHI)

腰椎间盘退变(lumbar disc degeneration, IDD)是由于椎间盘组织承受过甚的压缩应力所致<sup>[1]</sup>。研究证明,异常的压缩应力或超重负荷、过度肥胖易导致椎间盘退变<sup>[2]</sup>。因此,构建一种相似于人椎间盘的退变模型是研究异常压缩应力影响椎间盘退变的关键<sup>[3-5]</sup>。人椎间盘的特点是脊索细胞丢失,体积相对较大,靠双足行走产生轴向压缩应力<sup>[6]</sup>。目前,研究者通常利用大鼠、兔等动物来构建异常压缩应力致椎间盘退变的模型<sup>[7]</sup>。但大鼠、兔的椎间盘体积相对较小,难以构建一种合理性强、模拟程度高的椎间盘退变模型来深入研究人椎间盘退变机制,从微观方面难以了解异常压缩应力大小和作用时间对椎间盘退行性改变的影响。Chris等<sup>[8]</sup>通过对比研究发现,山羊与人体椎间盘在尺寸和形状方面具有相似性,而且成年山羊椎间盘同样缺乏脊索细胞,并且具有良好的手术耐受性,是一个经济实用较为理想的动物模型。本文通过可控弹性压缩应力装置轴向构建山羊椎间盘退变模型,从影像学及组织细胞学观察一定压缩应力与作用时间长短对山羊椎间盘退变的微观变化规律,为临床预防和治疗椎间盘退行性疾病提供客观的理论依据。

## 1 材料与方法

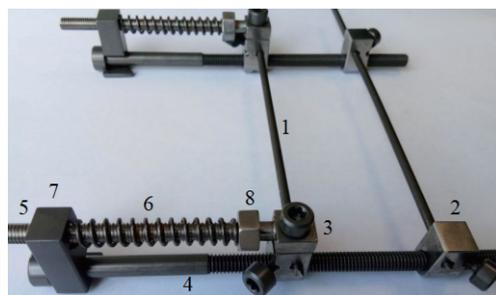
### 1.1 实验动物

成熟山羊 20 只,体质量( $20 \pm 2.0$ ) kg,由南华大学动物部提供[许可证号:SYXK(湘)2015-0001]。研究方案均通过南华大学附属第一医院伦理审查。所有山羊外观正常,进食及活动良好,并通过影像学检查排除骨折、骨骼畸形等特殊情况。随机将 20 只山羊分为对照组 5 只,实验组 15 只(加

压 4 周组、加压 8 周组、加压 12 周组, $n=5$ ),压力为 40 N。如果在构建模型过程中出现动物因死亡等原因未达到加压时间的情况,则再取山羊补足。

### 1.2 弹性压缩应力装置

**1.2.1 弹性压缩应力装置结构与工作原理** 弹性压缩应力装置(简称加压装置)由广东佛山施泰宝医疗器械有限公司生产提供(见图 1)。加压工作原理如下:两根克氏针通过经皮穿刺术分别固定于椎间盘的上下椎体,克氏针端头暴露于体外,1 根克氏针通过螺纹连接块固定于内六角螺杆一端,另 1 根克氏针通过滑动连接块与加压弹簧相连,并且可以在内六角螺杆上自由滑动。调节弹簧推块的位置可以使加压弹簧发生缩短形变,从而产生弹性应力。通过与其相连的克氏针将压力传导至山羊椎体,从而对椎间盘实现加压。



1-钛克氏针,2-螺纹连接块,3-滑动连接块,4-内六角螺杆,5-弹簧滑动杆,6-加压弹簧,7-弹簧推块,8-调节螺帽

图 1 山羊弹性压缩应力器及弹力量化装置

Fig. 1 Goat compression stress apparatus and elastic quantizer

**1.2.2 压缩应力量化** 克氏针形变产生压缩应力的量化由加压弹簧完成。两侧的加压弹簧弹性系数相同,根据胡克定律,可以算出施加 40 N 力时弹

簧所发生的形变量,加压装置固定于山羊腰椎上后,下端的克氏针通过螺纹连接块进行固定,再旋转内六角螺杆,缩短弹簧推块与滑动连接块之间的距离,使弹簧缩短的距离恰好等于之前计算的形变量,此时弹簧正好产生 40 N 弹性应力。

**1.2.3 实验操作** 山羊腰背备皮(剃毛区约 300 mm×400 mm),在 L4、L5 椎体对应处作经皮克氏针穿刺标记,肌注 0.02 mL/kg 鹿眠宁进行麻醉,操作中每 30 min 加用陆眠灵 0.1 mL 维持麻醉,术前 30 min 肌注青霉素钠预防感染。山羊备皮区常规消毒铺巾,在 C 型臂机监视下,取 2 根克氏针分别从一侧标记处经皮穿刺进针,克氏针保持与山羊脊柱垂直,用锤子将克氏针横穿 L4、L5 椎体,从一侧穿出对侧皮肤,再用 C 型臂机透视确定位置良好后,安装加压装置,调节加压弹簧长度至 40 N 所对应的形变量,左右两侧弹簧长度一致(见图 2)。每间隔 3~5 d 检查加压装置,如有移动再旋转调节螺帽,确保 2 根克氏针对山羊椎体进行持续压缩。操作完毕后,用无菌纱布缠绕左右两侧克氏针端的针眼,每天用 75% 酒精浸滴消毒 1 次,连续用抗生素(青霉素钠)7 d,针眼处也可涂红霉素软膏。结果显示,安装后两克氏针受压缩应力示有轻度弹性弯曲。对照组只进行可控弹性压缩应力装置的安装,但是不施加应力,同样用上述的方法进行针道护理。术后根据分组定期行 X 线和磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)扫描,完成后将山羊运回饲养场地,可自由活动,给予食物及水,观察山羊有无饮食及活动障碍、死亡。

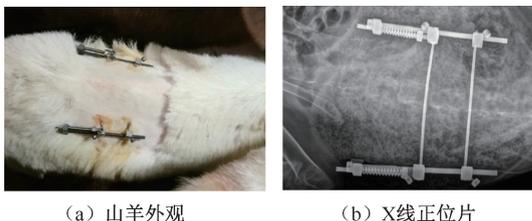


图2 弹性压缩应力器安装状况

**Fig.2 Installation condition of the elastic compression stress apparatus** (a) Appearance of the goat, (b) X ray positive film

### 1.3 影像学检查

按照分组,分别在术后即刻以及术后 4、8、12 周进行影像学检查,包括 X 线和 MRI 检查,所有影像

学资料由 1 位放射科医师盲法阅片,并计算各组的椎间盘高度指数(disc height index, DHI)<sup>[9-10]</sup>。采用 Pfirrmann 分级法对各组标本进行分级评估及统计学分析<sup>[11]</sup>。DHI 测量计算方法如图 3 所示:取椎体、椎间盘上下缘 1/4、1/2、3/4 点进行连线,  $DHI = 2(A+B+C)/(D+E+F+G+H+I) \times 100\%$ 。

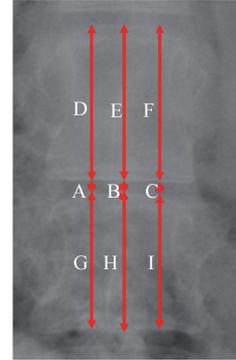


图3 DHI 测量方法

**Fig.3 Method of DHI measurement**

### 1.4 病理学检查

为了获取对照组完整的影像学资料,在各个时间节点处死各组实验组山羊,在 12 周时处死对照组山羊,取下完整 L4~5 椎间盘,4% 多聚甲醛固定,用清水冲洗,常规脱钙、脱水,石蜡包埋,切片、脱蜡后对实验组和对照组标本分别行苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色,在光学显微镜下观察纤维环、髓核形态学变化,细胞核显示为蓝色,细胞质显示为红色;选取与 HE 染色一样标准的椎间盘组织切片,采用免疫组化分别对 I、II 型胶原蛋白进行观察,评价两种蛋白在髓核及纤维环中的表达情况,染色为棕黄色时,提示强阳性,无染色为阴性。

### 1.5 统计学分析

统计结果采用 SPSS 19.0 软件分析,实验组与对照组 DHI 统计结果采用两独立样本 *t* 检验,实验组与对照组 Pfirrmann 分级结果采用卡方检验(行×列),以  $P < 0.05$  表示差异存在统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 X 线检查

影像学测量结果表明,对照组在术后即刻以及术后 4、8、12 周时, DHI 未发生明显变化;实验组则

随着加压时间延长, DHI 逐渐下降(见表 1)。

表 1 对照组和实验组术后 DHI 对比( $n=5$ , \* $P<0.05$ )

Tab.1 Comparison of DHI in control group and experimental group after surgery

组别	术后时间/周			
	0	4	8	12
对照组	8.67±0.97	8.55±0.56	8.32±1.07	8.22±0.87
实验组	8.85±1.09*	7.15±0.91*	6.28±1.12*	5.03±0.88*

## 2.2 MRI 检查

所有实验动物在 MRI 检查后采用 Pfirrmann 分级法进行评价,对照组在术后即刻以及术后 4、8 周时均为 I 级,术后 12 周时 4 只 I 级、1 只 II 级;实验组术后即刻 MRI 显示均为 I 级,加压 4 周组 3 只 II 级、2 只 III 级;加压 8 周组 2 只 III 级、3 只 IV 级;加压 8 周组 1 只 IV 级、4 只 V 级(见表 2)。Pfirrmann 分级评分对照组不同时间段里无明显差异,实验组随着时间的延长,椎间盘退变差异越大。

表 2 对照组和实验组术后磁共振 Pfirrmann 分级( $n=5$ )

Tab.2 MRI Pfirrmann scale for control group and experimental group after surgery

组别	术后时间/周			
	0	4	8	12
对照组	I (5)	I (5)	I (5)	I (4), II (1)
实验组	I (5)	II (3), III (2)	III (2), IV (3)	IV (1), V (4)

## 2.3 HE 及免疫组化染色

**2.3.1 HE 染色** 对照组在不同时间段切片 HE 染色观察无明显差别。实验组术后 4 周纤维环良好,呈半环形结构,髓核混合细胞数量减少,纤维环和髓核组织之间边界清晰可见;8 周部分纤维环破裂,半环形结构不完整,髓核混合细胞中具有一些细胞簇,纤维环与髓核组织边界欠清楚;术后 12 周纤维环完全破裂,半环形结构消失,呈半环胶原薄片,髓核混合细胞中有大量细胞簇,有软骨样巢存在,纤维环和髓核组织之间边界不清晰(见图 4)。

**2.3.2 免疫组织学** 对照组 I 型胶原纤维环外层染色均呈棕黄色,纤维环内层染色较弱,髓核无染色;II 型胶原髓核染色呈棕黄色,纤维环外层染色呈浅黄色。实验组 I 型胶原髓核术后 4 周呈淡黄色,8 周呈黄色,12 周呈棕黄色;II 型胶原髓核术后 4 周呈深黄色,8 周呈黄色,12 周呈淡黄色或无色。I 型及 II 型胶原染色显示椎间盘轴向加压时间越长,椎间盘 I 型胶原蛋白增多,II 型胶原蛋白减少,髓核蛋白多糖含量逐渐下降,椎间随着盘轴向弹性压应力时间越长,椎间盘退变越重,椎间盘髓核组织逐渐向纤维化发展(见图 5)。

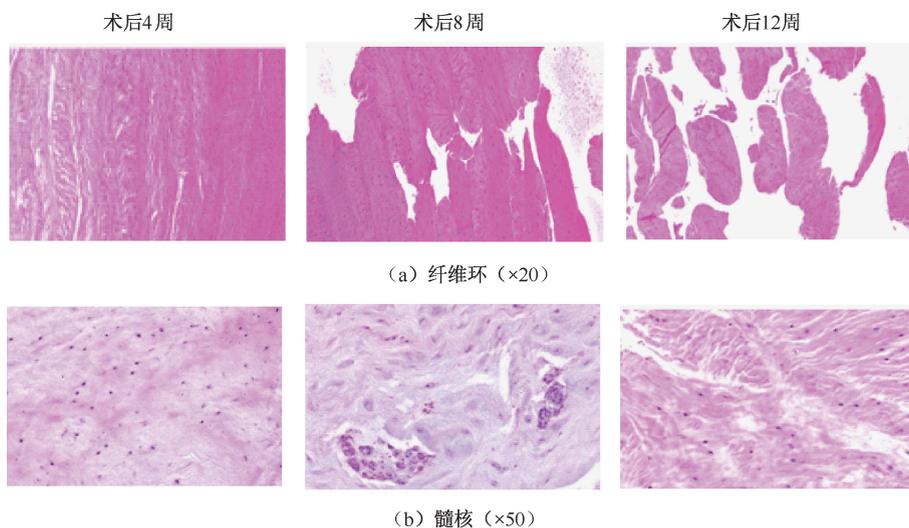


图 4 实验组纤维环、髓核在轴向压缩应力下术后不同时间 HE 染色变化

Fig.4 Changes of HE staining for annulus fibrosus and nucleus pulposus in experimental group under axial compression stress at different time after surgery (a) Annulus fibrosus ( $\times 20$ ), (b) Nucleus pulposus ( $\times 50$ )

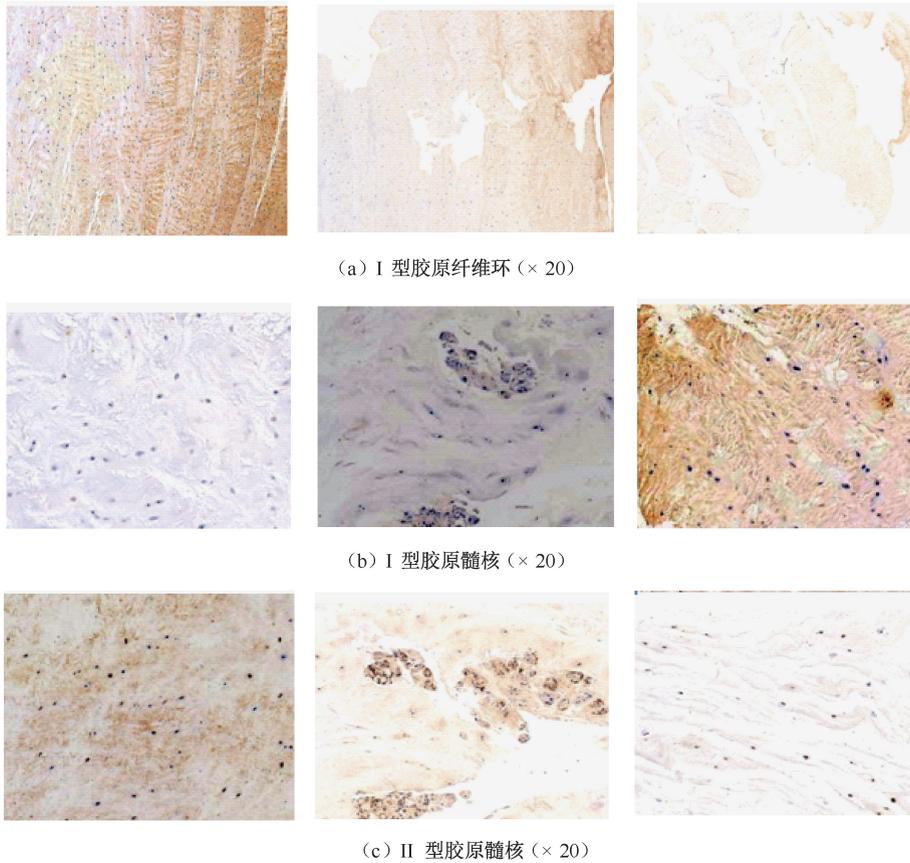


图5 实验组纤维环、髓核在术后不同时间 I、II 型胶原染色下的变化

Fig.5 Changes of annulus fibrosus and nucleus pulposus in experimental group at different time under type I and type II collagen staining (a) Type I collagen in annulus fibrosus (×20), (b) Type I collagen in nucleus pulposus (×20), (c) Type II collagen in nucleus pulposus (×20)

### 3 讨论

IDD 性腰痛与腰部疲劳负荷、重体力劳动和久坐等因素密切相关<sup>[12]</sup>。以上因素的共同点体现如下:脊柱轴向压缩应力改变,异常的轴向压缩应力和作用时间直接影响椎间盘退变的进展速度,即通过改变椎间盘所承受轴向压缩应力的性质,可以加快或减缓椎间盘退变的进程<sup>[13]</sup>。研究异常应力和作用时间对人椎间盘退变的影响涉及伦理原则,直接在人体上进行椎间盘退变的实验研究不可行。因此,需要构建一个合理、可行、模拟程度较高的大动物模型,探讨椎间盘轴向压缩应力和作用时间对椎间盘退变进程的具体影响。本文基于自行设计的弹性压缩应力装置,在不同时间段轴向诱导山羊腰椎间盘退变,通过影像及病理学验证不同时间段

椎间盘退变的微观变化。

#### 3.1 山羊与压缩应力的选择

**3.1.1 成熟山羊与人椎间盘的比较** 成年山羊腰椎间盘与成年人一样缺乏脊髓细胞。相比大白鼠、兔等常见实验动物,成年山羊椎间盘的结构与成年人更为相似,而且山羊椎间盘与人椎间盘大小、形状、解剖高度相似<sup>[14-15]</sup>。白皓天等<sup>[16]</sup>通过测定山羊与人椎间盘的形态、曲率半径、椎体指数、腰椎运动屈伸活动度及椎体密度发现,山羊在解剖学形态、密度和生物力学方面均与人有很好的相似性,可以作为研究腰椎间盘疾病的动物模型。因此,模仿人直立时受到的轴向压缩应力时,用山羊脊柱构建椎间盘退变模型来研究人椎间盘退变疾病是可行的。

**3.1.2 模拟人类腰椎间盘轴向负重** 山羊行走时脊柱与地面平行,其椎间盘不会因为重力而受到压

缩;而人是直立行走,脊柱轴线垂直于地面,故椎间盘成为承重并分散应力的主要结构,并且在脊柱发生侧弯、屈伸运动时,椎间盘的应力情况也会发生改变。研究表明,人椎间盘退变与其受到的异常轴向压缩应力密切相关<sup>[17]</sup>。人椎间盘是由纤维环、髓核、上下终板构成的柔性盘状体,在椎间盘上下椎体上施加压缩应力时,椎间盘会发生相应的弹性形变来分散应力;椎间盘高度变低,并向四周膨胀。当解除轴向压缩应力时,椎间盘形状得以恢复。因此,本文设计研发了一种弹性压缩应力装置固定于山羊腰椎,使得山羊腰椎间盘在脊柱长轴方向上受到压缩应力,模拟出一个与类似于人椎间盘所受到的异常压缩应力,从而构建一个更为合理的仿生动物模型,来探索压缩应力与椎间盘退变的内在联系。

### 3.2 一定压缩应力在不同时间段椎间盘退变

**3.2.1 影像学改变** DHI 是反映椎间盘退变常用的指标,椎间盘退变的程度越高,DHI 越低<sup>[18]</sup>。实验组山羊在轴向压缩应力作用下,术后 4、8、12 周的 DHI 分别为  $7.15 \pm 0.91$ 、 $6.28 \pm 1.12$ 、 $5.03 \pm 0.88$ ,与对照组相比均明显降低;由此可见,在山羊脊柱施加轴向的压缩应力诱导椎间盘退变是可行的,且随着压缩时间增加,实验组 DHI 越小。此外,本文还采用 Pfirrmann 分级对各组椎间盘退变进行评价比较,根据髓核结构、纤维环界限、髓核信号强度及椎间盘高度等指标进行分级。I 级椎间盘的结构呈均匀的白色高信号,椎间盘高度正常;II 级为不均匀的白色高信号,椎间盘高度正常;III 级椎间盘结构的信号不均匀,中间灰白;IV 级椎间盘为稍黑色低信号,椎间盘高度降低;V 级为黑色不均匀的低信号,椎间盘高度明显降低。实验结果表明,予以轴向压缩应力的实验组 II 级以上的例数明显多于对照组,并且在实验组内,随着轴向压缩时间延长,III 级以上的例数越多。由此,本文认为异于生理状态下的轴向压缩应力可以诱导山羊发生椎间盘退变,并且随着时间延长,退变程度在影像学表现为逐渐加重,这可能是因为长时间生理的静态负荷引发椎间盘细胞基质的合成代谢紊乱,从而导致椎间盘退变<sup>[19]</sup>。

**3.2.2 椎间盘退变 组织细胞学改变** 山羊腰椎间盘在一定压缩应力轴向诱导下椎间盘组织细胞发

生退行改变。本文通过 HE 染色及免疫组化观察发现,在一定压缩应力轴向诱导下,随着时间延长,山羊腰椎间盘组织细胞在形态上发生了相应的变化。纤维环结构由半环形→失去半环形→没有完整半环形胶原薄片;髓核细胞由减少→固缩性坏死→纤维组织替代,存在软骨样巢;纤维环和髓核边界由清晰→不太清楚→不清楚。

正常情况下纤维环中 I 型胶原含量较高、II 型胶原含量较低;髓核组织中 II 型胶原含量较高、I 型胶原含量较低;当椎间盘出现退变时,这两种蛋白在纤维环与髓核中的表达则呈现相反趋势<sup>[20]</sup>。通过免疫组化发现,实验组随着加压时间的延长,胶原蛋白的表达出现不同的变化,纤维环 I 型胶原染色由深黄色→黄色→淡黄色(含量逐渐减少),髓核 I 型胶原染色由淡黄色→黄色→棕黄色(含量逐渐升高),髓核 II 型胶原染色由深黄色→黄色→淡黄或无染色(含量逐渐减少)。由此可见,在一定压缩应力诱导下,随着时间延长,髓核及纤维环形态学改变逐渐加重(髓核组织逐渐纤维化,纤维环逐渐破裂),其基质代谢也更加紊乱(I、II 型胶原蛋白表达失常),即椎间盘退变程度更为严重。

## 4 结论

本实验利用自行设计的加压装置轴向诱导山羊腰椎间盘出现影像学退变征象,在组织细胞学上观察到退行性改变;不仅通过影像学和病理学验证了该模型的有效性,而且通过对比研究发现,在相同压缩应力的诱导下,随着时间的延长,其 DHI 逐渐降低,Pfirrmann 分级评价退变程度逐渐升高,组织细胞学上退行性改变越明显。该动物实验为进一步研究椎间盘退变机制提供了一个仿生度更高的动物模型,在未来可能有助于揭示轴向压缩应力与椎间盘退变的内在联系。本实验研究的局限性如下:① 动物模型构建成功的关键在于克氏针的安装,故对经皮穿刺技术要求较高;② 装置安装于山羊皮肤表面,易出现针道感染,故对术后护理要求较高。

## 参考文献:

- [1] DESMOULIN GT, PRADHAN V, MILNER TE. Mechanical aspects of intervertebral disc injury and implications on

- biomechanics [J]. Spine, 2020, 45(8): 457-464.
- [ 2 ] DELGADO-LOPEZ PD, CASTILLA-DIEZ JM. Impact of obesity in the pathophysiology of degenerative disk disease and in the morbidity and outcome of lumbar spine surgery [J]. Neurocirugia, 2018, 29(2): 93-102.
- [ 3 ] 康禹, 宋西正. 压缩应力诱导椎间盘退变动物模型构建的研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2017, 27(8): 749-752.
- [ 4 ] KOS N, GRADISNIK L, VELNAR T. A brief review of the degenerative intervertebral disc disease [J]. Med Arch, 2019, 73(6): 421-424.
- [ 5 ] VERGROESEN PP, KINGMA I, EMANUEL KS, *et al.* Mechanics and biology in intervertebral disc degeneration: A vicious circle [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2015, 23(7): 1057-1070.
- [ 6 ] LIANG L, LI X, LI D, *et al.* The characteristics of stem cells in human degenerative intervertebral disc [J]. Medicine, 2017, 96(25): e71-78.
- [ 7 ] JIN L, BALIAN G, LI XJ. Animal models for disc degeneration. An update [J]. Histol Histopathol, 2018, 33(6): 543-554.
- [ 8 ] 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, 59: 52-65.
- [ 9 ] SUDO H, MINAMI A. Caspase 3 as a therapeutic target for regulation of intervertebral disc degeneration in rabbits [J]. Arthritis Rheum, 2011, 63(6): 1648-1657.
- [ 10 ] PAPADAKIS M, SAPKAS G, PAPADOPOULOS EC, *et al.* Pathophysiology and biomechanics of the aging spine [J]. Open Orthop J, 2011, 5: 335-342.
- [ 11 ] YU LP, QIAN WW, YIN GY, *et al.* MRI assessment of lumbar intervertebral disc degeneration with lumbar degenerative disease using the Pfirrmann grading systems [J]. PLoS One, 2012, 7(12): 48-74.
- [ 12 ] HASEGAWA T, KATSUHIRA J, OKA H, *et al.* Association of low back load with low back pain during static standing [J]. PLoS One. 2018, 13(12): 77-81.
- [ 13 ] CHE YJ, GUO JB, LIANG T, *et al.* Controlled immobilization-traction based on intervertebral stability is conducive to the regeneration or repair of the degenerative disc: An *in vivo* study on the rat coccygeal model [J]. Spine J, 2019, 19(5): 920-930.
- [ 14 ] STOLWORTHY DK, BOWDEN AE, ROEDER BL, *et al.* MRI evaluation of spontaneous intervertebral disc degeneration in the alpaca cervical spine [J]. J Orthop Res, 2015, 33(12): 1776-1783.
- [ 15 ] 海宝, 祝斌, 刘晓光. 椎间盘退变动物模型的研究进展[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(3): 374-379.
- [ 16 ] 白皓天, 韩宏志, 孔宁, 等. 鹿、羊作为椎管内固定动物模型的可行性研究[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(1): 7-11.
- [ 17 ] WANG F, CAI F, SHI R, *et al.* Aging and age related stresses: A senescence mechanism of intervertebral disc degeneration [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2016, 24(3): 398-408.
- [ 18 ] 杨璐, 邢浩然, 陈晶晶, 等. 腰椎间盘退变时椎间盘高度变化及其临床意义[J]. 中国临床解剖学杂志, 2017, 35(3): 355-358.
- [ 19 ] SMIT TH. The use of a quadruped as an *in vivo* model for the study of the spine: Biomechanical considerations [J]. Eur Spine J, 2002, 11(2): 137-144.
- [ 20 ] ADAMS A, ROCHE O, MAZUMDER A, *et al.* Imaging of degenerative lumbar intervertebral discs: Linking anatomy, pathology and imaging [J]. Postgrad Med J, 2014, 90(1067): 511-519.