

# Modic 改变动物模型的建立及其评估

韩超 马信龙 王涛 马剑雄 田鹏 臧加成

**【摘要】 目的** 采用终板钻孔髓核置入建立兔 Modic 改变动物模型,并通过影像学、组织学和分子生物学等进行评估,探讨建立 Modic 改变动物模型的可行性及 Modic 改变的形成机制。**方法** 54 只新西兰大白兔(体重 2.5~3.0 kg,雌雄各半)随机分为髓核置入组、肌肉置入组和对照组,每组各 18 只。髓核置入组行腰椎前外侧手术入路暴露 L<sub>4-5</sub>、L<sub>5-6</sub> 椎间盘右前外侧,使用 16 G 骨穿针在 L<sub>5-6</sub> 椎间盘紧邻骺板的椎体处钻孔,深度约 3 mm;利用 5 ml 空针刺入 L<sub>4-5</sub> 椎间盘中,抽取髓核并将其推入至椎体的钻孔内;肌肉置入组行相同手术显露及钻孔方法在 L<sub>5-6</sub> 椎间盘紧邻骺板的椎体处钻孔,取少量椎旁肌肉置入椎体的钻孔内;对照组行相同手术显露及钻孔方法,但不置入任何组织。止血、冲洗后,缝合各层组织和皮肤。术后 12、16 和 20 周行 MR 检查后各组动物处死 6 只,取标本进行大体形态学和组织学(HE 染色)观察造模形成情况,实时荧光定量 RT-PCR 及 Western blot 观察造模部位炎症因子的表达。**结果** 术后 12 周、16 周和 20 周, MRI 显示髓核置入组 T<sub>1</sub> 加权像可见有低信号出现, T<sub>2</sub> 加权像则显示低信号的背景下出现了不同程度的混杂高信号,而对照组及肌肉置入组均未见明显信号改变。大体观察及组织学观察结果也证实髓核置入组髓核置入部位出现组织的异常增殖。RT-PCR 及 Western blot 检测显示髓核置入组 IL-4、IL-17 及 IFN- $\gamma$  的高表达现象,髓核置入组均高于肌肉置入组和对照组,且基本与术后时间呈正相关。肌肉置入组与对照组比较差异无统计学意义。**结论** 终板钻孔髓核置入法可以成功建立 Modic 改变的动物模型,自身免疫因素很有可能在 Modic 改变中发挥着重要的作用。

**【关键词】** 椎间盘退行性变;模型,动物;白细胞介素 4;白细胞介素 17;干扰素  $\gamma$

**The establishment and evaluation of animal model for modic changes** Han Chao, Ma Xinlong, Wang Tao, Ma Jianxiong, Tian Peng, Zang Jiacheng. Department of Orthopaedics, Tianjin Hospital, Tianjin 300211, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the possibility of establishing a Modic changes (MCs) animal model, and explore the pathogenesis of MCs through imaging, histology and molecular biology experiments. **Methods** Fifty four New Zealand rabbits (weight 2.5–3.0 kg, half male and half female) were randomly divided into 3 groups: sham group (n=18), muscle embedment group (n=18) and NP embedment group (n=18). In NP embedment group, the L<sub>4-5</sub> and L<sub>5-6</sub> discs were exposed by the lumbar anterolateral surgical approach. A 16 G needle was used to puncture the L<sub>5-6</sub> vertebral body close to the epiphyseal plate. The depth of the drilling was approximately 3 mm. A 5 ml syringe was then put into the L<sub>4-5</sub> intervertebral disc and extracted the NP, which was injected into the drilled hole of the vertebral body. The muscle embedment group and sham group shared the same operating procedures and drilling methods with the NP embedment group. Some pieces of muscle acquired from paraspinal muscles were put into the drilled hole in muscle embedment group, while nothing was put into the drilled hole in sham group. After that, the bleeding stopping, tissue washing and suture were done in all groups. 12 weeks, 16 weeks and 20 weeks after the surgery, MRI scan was applied to each group. All the specimens were tested by HE staining, real-time fluorescence quantitative PCR and Western blot to observe the expression of inflammatory cytokines. **Results** After modeling for 12 weeks, 16 weeks and 20 weeks, MRI showed low signal changes on T<sub>1</sub>WI and mixed high signal in the context of low signal changes on T<sub>2</sub>WI in the NP embedment group. However, the muscle embedment and sham group showed no significant signal changes. Gross observation and HE staining confirmed that there was abnormal tissue proliferation in the imbed site of the NP embedment group. RT-PCR and Western blot showed high expression of IL-4, IL-17 and IFN- $\gamma$  in the NP embedment group, which were positively correlated with the length of the postoperative period. There was no significant difference between the muscle embedment group and sham group. **Conclusion** The puncturing of vertebral body close to endplate and putting nucleus into it can create an animal model of MCs. Autoimmune factors may play an important role in MCs.

**【Key words】** Intervertebral disc degeneration; Models, animal; Interleukin-4; Interleukin-17; Interferon-gamma

Modic 改变(Modic changes)是临床中的常见现象,表现为终板及终板下骨在核磁上的一系列信号变化,近年来由于发现该现象与腰痛的关系十分密

切<sup>[1]</sup>,所以其发病机制已成为医学研究的热点。

Modic 改变的临床表现可分为以下几种类型:

I 型, T<sub>1</sub> 加权像终板及邻近骨呈低信号, T<sub>2</sub> 加权像呈高信号,其病理学表现为组织学上的水肿变化; II 型: T<sub>1</sub> 加权像呈高信号, T<sub>2</sub> 加权像呈等信号或轻度升高,其病理学表现为骨髓脂肪变性(红骨髓为黄骨髓所替代)或骨髓缺血坏死; III 型: T<sub>1</sub>、T<sub>2</sub> 加权像信

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2352.2014.04.022

作者单位: 300211 天津医院骨科(韩超、马信龙、王涛、田鹏、臧加成),天津医院骨研所生物力学室(马剑雄)

通信作者: 马信龙, E-mail: maxinlong8686@sina.com

号均降低,病理学表现为骨髓脂肪沉积均已被硬化骨所替代<sup>[2-3]</sup>。

尽管对于 Modic 改变有较多的临床研究<sup>[4-6]</sup>,但大多数研究集中于 Modic 改变与流行病学方面<sup>[7-9]</sup>,而对于其发病机制还尚处于推测阶段。由于 Modic 改变在一般人群中的发病率较低且缺乏人体志愿者标本,这就使得直接利用人体病变椎体进行研究不易实现。虽然当前对于椎间盘退变的动物模型已较为成熟<sup>[10-12]</sup>,但至今尚无针对 Modic 改变动物模型的相关报道。因此,如果能够建立在既有退变动物模型的基础上建立一个稳定的 Modic 改变动物模型,则会大大推进 Modic 改变的研究进程。

本研究依据 Modic 改变的自身免疫学说,采用新西兰大白兔腰椎终板钻孔、自体髓核置入的方法建立 Modic 改变动物模型,并从影像学、组织学及分子生物学等多个方面观察造模部位,目的在于:(1)分析自体髓核置入椎体诱导 Modic 改变有可行性;(2)总结 Modic 改变动物模型在组织形态学以及免疫学上的表现特征;(3)探讨髓核自身免疫反应在 Modic 改变中的具体作用机制。

## 材料与方 法

### 一、实验动物及分组

3月龄新西兰大耳白兔54只,体重2.5~3.0 kg,雌雄各半(由天津医科大学动物实验中心提供),单笼饲养,喂食普通兔饲料,充足饮水,保持笼内清洁,动物房干燥、安静、清洁、通风好,温度适宜。

分别以皮毛染色法编号,应用随机数字法将全部实验动物分为3组。依据动物造模时向椎体的钻孔内置入不同物质,将实验动物分为髓核置入组( $n=18$ )、肌肉置入组( $n=18$ )和对照组( $n=18$ )。均于术前全麻后行腰椎X线及MR检查,确认腰椎无先天畸形等病变。

### 二、终板下椎体自身免疫反应模型的建立

三组动物按5 ml/kg的剂量,给予20%氨基甲酸乙酯溶液耳缘静脉麻醉成功后,备皮、消毒。模仿人腰椎间盘前外侧入路的手术体位,将兔右侧卧位固定于与水平位45°角。

消毒,铺单后,以家兔两侧髂嵴最高点连线与脊柱相交处为L<sub>6,7</sub>棘间隙的解剖特点来定位L<sub>4,5</sub>棘间隙。自此点作对侧各横突尖连线的垂直线,以交点为中心取纵切口长约5 cm。依次切开皮肤、皮下筋膜、腹外斜肌、腹内斜肌、腹横肌,使用生理盐水纱布钝性分离后腹膜与腰大肌,保护腹主动脉、下

腔静脉,分离腰大肌,暴露L<sub>4-5</sub>、L<sub>5-6</sub>椎间盘左前外侧。

使用16 G骨穿针在L<sub>5-6</sub>椎间盘紧邻骺板的椎体处钻孔,深度约3 mm;利用5 ml空针刺入L<sub>4-5</sub>椎间盘中抽取髓核。按照各实验组的要求,分别将髓核、肌肉推入至椎体的钻孔内,并采用钻孔所残留的骨块填塞。止血、冲洗后缝合各层组织和皮肤,并覆盖以碘伏纱布,包扎固定。

对照组仅进行钻孔和骨块填塞,不置入任何组织,其他操作与实验组相同。

### 三、标本的获取

各组动物分别于术后12、16和20周分批处死,每组各6只。处死前行腰椎MR检查,以了解造模处椎体信号的变化。采用空气栓塞法处死动物后,整块断取L<sub>5</sub>~L<sub>6</sub>脊椎,剔除肌肉及其他软组织后,肉眼观察椎体钻孔部位色泽及外形。PBS溶液冲洗后,每组3个标本置于体积分数为10%的甲醛固定液中,用于病理检查;另3个标本迅速置于液氮罐中保存,用于PCR及Western blot检测。

### 四、组织学观察

将所取标本用体积分数为10%的中性甲醛溶液(pH=7.4),4℃固定4 d。

PBS溶液冲洗,置于体积分数10%的EDTA-Tris缓冲液中,37.4℃脱钙21 d,每周更换脱钙液1次,换液时观察骨标本表面颜色并用物理法测定其脱钙程度。

脱钙完全后取材,梯度乙醇逐级脱水。二甲苯透明处理2 h,石蜡包埋。制成4 μm厚切片,常规HE染色。

### 五、实时荧光定量逆转录聚合酶链式反应

#### (一)组织总RNA的提取

将标本从液氮中取出,立刻称重。将组织置于预冷的研钵中,边加液氮边研磨,直至成为碎末状。每100 mg组织加入Trizol (Sigma公司,美国)200 μl,继续研磨直至融化。

将裂解产物移至RNase-free的1.5 ml离心管中,每管1 ml。加入预冷的氯仿,200 μl/管,涡旋混匀,冰浴10 min。4℃,12 000转/min离心15 min,小心吸取上层水相至新管。

加入1.5倍体积的无水乙醇,混匀,-80℃沉淀1 h。4℃,12 000 000转/min离心30 min,弃上清。加入体积分数为80%的乙醇1 ml/管,4℃,12 000 000转/min离心10 min,弃上清。吸净残液,开盖,晾干5 min,加入焦碳酸二乙酯(DEPC)水20 μl/管,溶解沉淀。

(二) 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR)

SYBR green 法 荧光定量逆转录聚合酶链式反应 (RT-PCR): 按照 SYBR Green 荧光定量 RT-PCR 试剂盒说明, RT-PCR 反应体系为: cDNA 模板 2 μl, ddH<sub>2</sub>O 8.5 μl, SYBR Green PCR Mix, 12.5 μl, 引物 2 μl, 总体系为 25 μl。IL-4、IL-17B 及 IFN-γ 引物的正反义序列如下。(表 1) 反应条件为: 95 °C 60 s; 95 °C 15 s, 60 °C 15 s, 72 °C 45 s, 共 36 个循环。同时做 65 °C~95 °C 溶解曲线。所有的样本均做 3 次检测, 取平均值进行分析。

表 1 IL-4、IL-17B、IFN-γ 及 ACTB 的 PCR 引物序列

基因名称	引物(Primer)	引物序列(5'-3')
IL-4	Primer F	CACTCTGCTCTGCCTCCTC
	Primer R	CTCTCCGTGCTCCTTGAAG
IL-17B	Primer F	CGAGAGGAACCTTGGGGAG
	Primer R	CACGGGAACCTGGCTGAAC
IFN-γ	Primer F	GCCAAATTGTCTCCTTCTAC
	Primer R	CTGACTCCTTTTTGCGCTTC
ACTB	Primer F	ATGCAGAAGGAGATCACC
	Primer R	AACACGAATAAAGCCATG

RT-PCR 数据的收集主要由 7000 Sequence Detection System 自带软件完成, 通过软件计算所有样品的 Ct 值, 用相对定量的方法分析数据, 即用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 值来计算各组目的基因表达的差异。

六、Western blot 检测

按凝胶大小剪膜, 将滤纸及转移膜浸泡在转移缓冲液中。组装转印夹层, 自下而上顺序: 滤纸、凝胶、PVDF 膜、滤纸。组装电转移槽, 凝胶在阴极, PVDF 膜在阳极。

恒压 90 V, 40 °C, RKIP 和 P-RKIP 电转移 2 h, P-ERK 和 P65 电转 3 h。取出 PVDF 膜, 行丽春红染色, 观察转膜是否成功。蒸馏水洗膜至丽春红色消失, 以含质量浓度 5% 脱脂奶粉的 TBS-T (TBS+0.1% Tween20) 室温下封闭非特异性抗原 2 h。

加入 1:300 稀释的兔抗人 IL-4 和 IL-17 多克隆抗体, 1:1000 稀释的 β-actin 单克隆抗体, 4 °C 过夜。采用 TBS-T 洗膜 10 min, 3 次。加入辣根过氧化物酶标记的二抗 (1:2000 稀释), 37 °C 摇床作用 1 h。采用 TBS-T 洗膜 10 min, 3 次后 DAB 显色。条带结果进行光密度值分析, 目的蛋白与 β-actin 比值作为目的蛋白表达水平的参数, 对产物相对定量。

七、统计学分析

采用 SPSS 16.0 软件包 (SPSS, 美国) 进行统计学

分析, 所有数据均采用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。RT-PCR 检测 IL-4、IL-17 和 IFN-γ 的 mRNA 表达量以及 Western blot 检测 IL-4 和 IL-17 的表达值采用单因素方差分析, 组间比较采用 SNK 法, 检验水准 α 值取双侧 0.05。

结 果

一、MRI 观察结果

髓核置入组动物术后 12 周, 在椎体钻孔置入髓核部位相邻软骨终板及终板下椎体松质骨和椎间盘分界模糊不清, T<sub>1</sub> 加权像可见低信号出现, 而 T<sub>2</sub> 加权像则在低信号的背景上出现混杂斑点状高信号; 术后 16 周, 仍可见上述变化, 但 T<sub>2</sub> 加权像混杂斑点状高信号强度减低; 术后 20 周, T<sub>2</sub> 加权像混杂斑点状高信号强度减弱, T<sub>1</sub> 加权像、T<sub>2</sub> 加权像均显示低信号, 高信号隐约可见。对照组及肌肉置入组的椎体钻孔处以及相邻椎体和软骨终板未见明显的信号异常 (图 1~3)。

二、大体形态观察结果

对照组, 可见椎体钻孔处愈合良好, 骨质光滑均匀一致, 表面颜色无明显改变。肌肉置入组较正常对照组变化不大, 钻孔处已愈合, 无明显骨赘生成。髓核置入组术后 12 周, 在椎体钻孔位置可见明显的骨赘生成, 延伸至同侧椎间盘水平, 周围软骨增生, 颜色灰白, 表面高低不平; 术后 16 周, 可见骨赘更加的明显, 向上突起, 与周围组织结合紧密; 术后 20 周, 可见骨赘范围更加广泛, 软骨增生明显, 密度升高 (图 4~6)。

三、组织学观察结果

对照组, 可见骨小梁完整、排列规则, 骨小梁中的骨细胞清晰可见, 钻孔处骺板排列规则、有序, 无明显增生现象。肌肉置入组较正常对照组变化不大, 骨小梁及骺板排列规则, 未见软骨细胞增生。髓核置入组术后 12 周, 在椎体钻孔位置则可见明显的软骨样细胞增生, 延伸至同侧椎间盘水平; 术后 16 周, 可见软骨细胞增生更加明显, 细胞大而肥厚, 中间夹杂类髓核样混杂组织; 术后 20 周, 可见软骨样增生范围更加广泛, 从钻孔部位跨越骺板、终板直至椎间盘, 难以观察到骨小梁结构 (图 7~9)。

四、实时荧光定量 PCR 检测

髓核置入组在术后 12、16、20 周椎体内 IL-4、IL-17 和 IFN-γ 的 mRNA 表达量明显升高, 均高于对照组及肌肉置入组, 且基本与术后时间呈正相关。

与对照组相比, 髓核置入组中 IL-4、IL-17 和 IFN-γ 的 mRNA 在各时间点的表达量的差异均有统计学

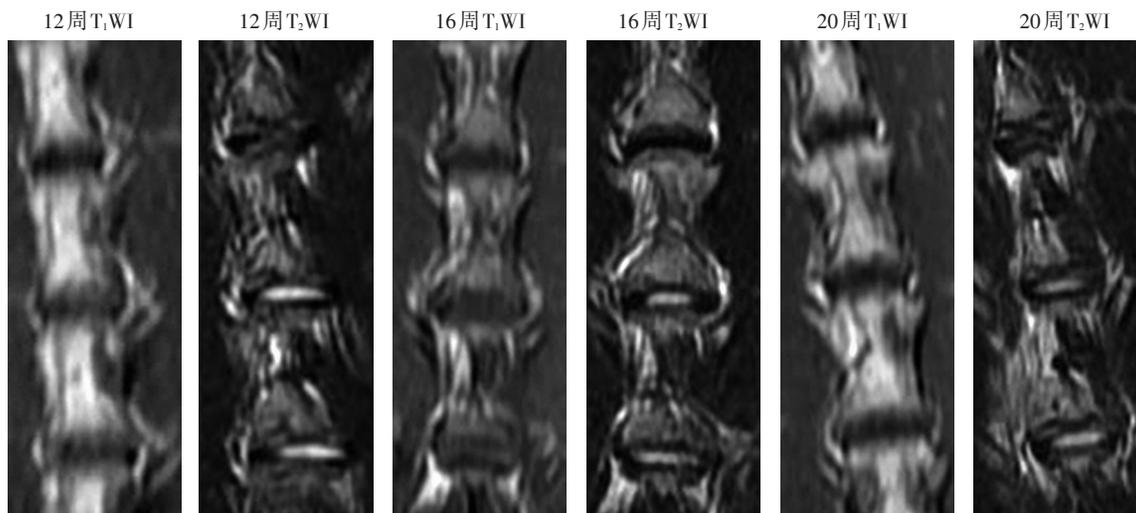


图 1 对照组显示造模钻孔部位已愈合,未见明显异常信号变化。随着造模时间的增长,骨质信号无明显改变

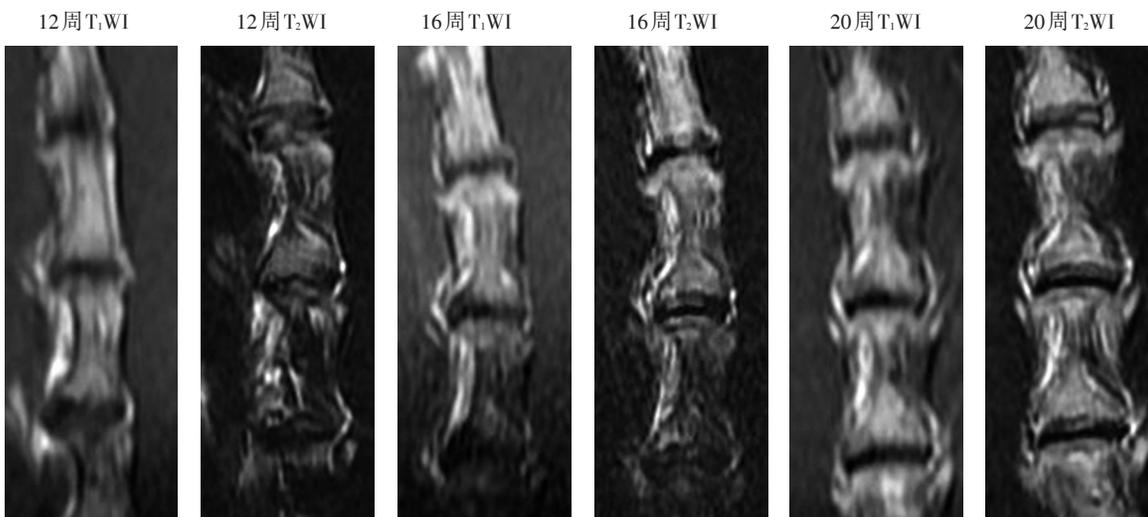


图 2 肌肉置入组 MRI 的信号特点同对照组基本一致,造模部位骨质信号连续,随着时间的增长,未见明显变化

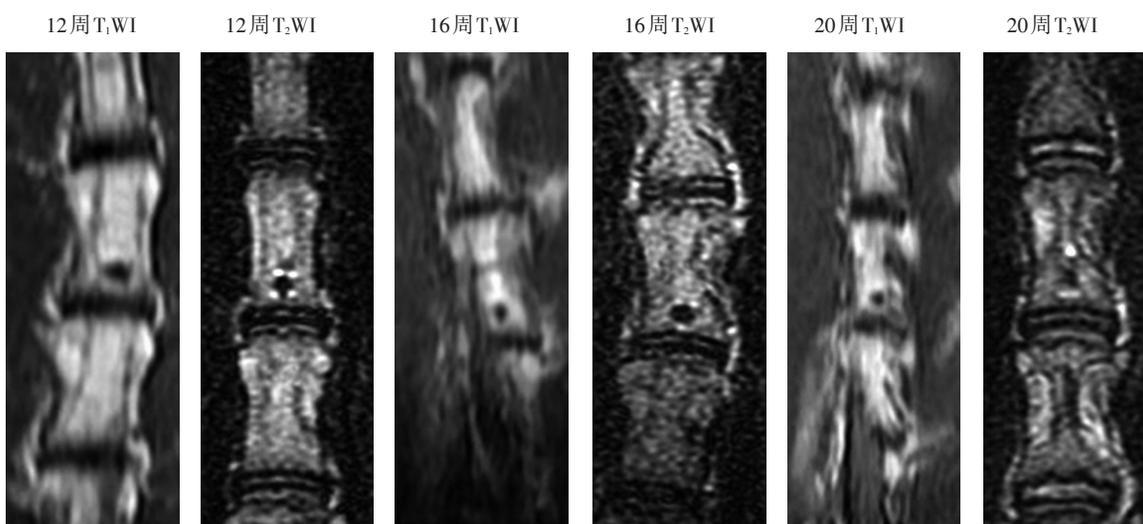


图 3 髓核置入组可见在造模部位出现了明显的信号变化,表现为 T<sub>1</sub> 加权像低信号, T<sub>2</sub> 加权像混合信号(以低信号为主);随着造模时间的增长, T<sub>2</sub> 加权像上高信号强度逐渐减弱

意义 ( $P < 0.05$ , 图 10)。

与对照组相比,肌肉置入组中 IL-4、IL-17 和 IFN- $\gamma$

的 mRNA 在各时间点 mRNA 表达量的差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ , 图 10)。

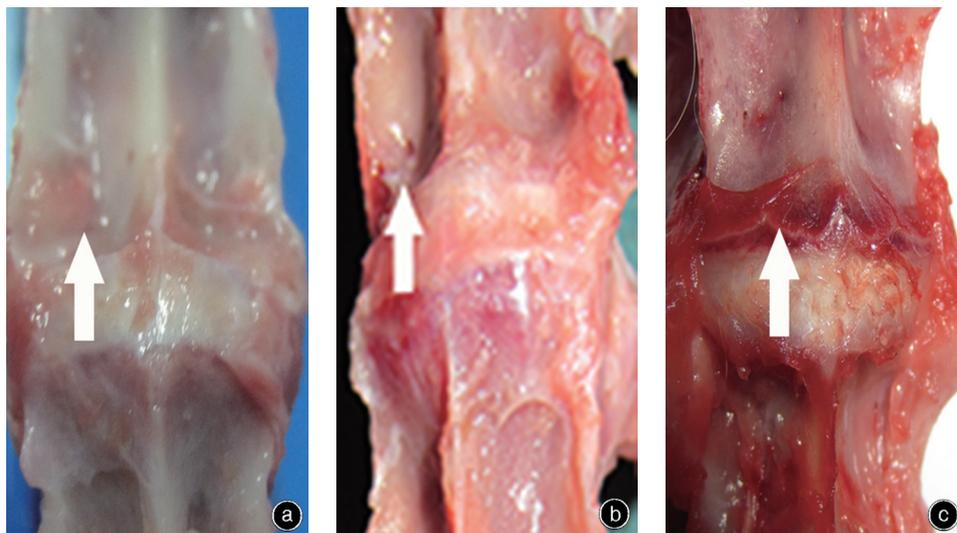


图4 对照组术后大体观察 a 术后12周,可见造模部位(箭头所示)伤口已愈合,表面光滑平整 b 术后16周,造模部位(箭头所示)未见明显赘生物,骨皮质连续 c 术后20周,已很难辨别造模伤口(箭头所示),随着时间的增长,未出现明显变化

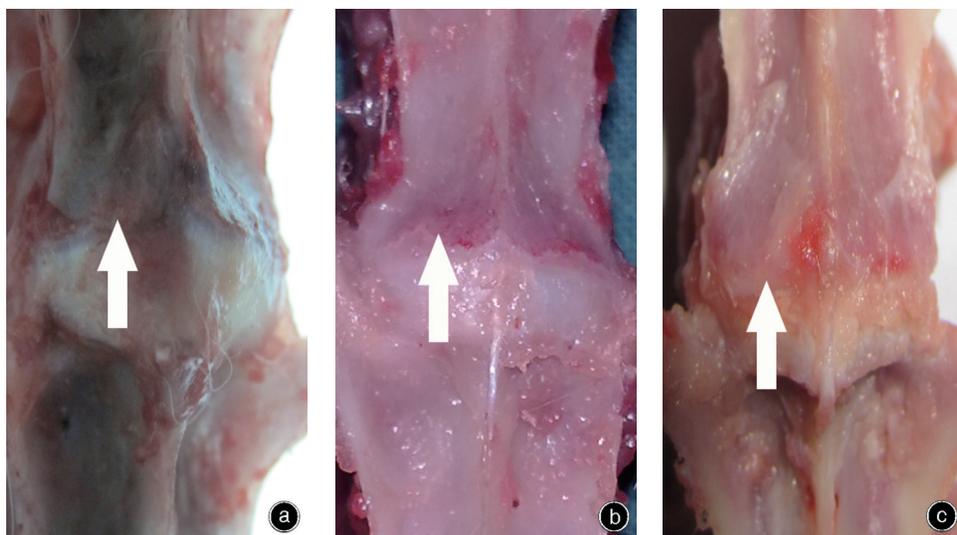


图5 肌肉置入组术后大体观察 a 术后12周,可见在造模钻孔部位出现愈合后形成的小瘢痕(箭头所示) b 术后16周,微小的瘢痕隆起(箭头所示)没有出现进一步增长,边缘稍显粗糙 c 术后20周,变化同前,未见明显赘生物(箭头所示)

### 五、Western blot 检测

Western blot 法检测 IL-4 和 IL-17, 图像分析结果发现,髓核置入组椎体组织内 IL-4 和 IL-17 呈高表达,在第 16 周时达到峰值;而肌肉置入组椎体组织内 IL-4 和 IL-17 表达仅轻度升高。正常对照组和髓核置入组比较,其差异具有统计学意义,  $P < 0.05$ ;而肌肉置入组的升高水平与正常对照组相比不具有统计学意义,  $P > 0.05$ (表 2, 图 11, 12)。

### 讨 论

一、Modic 改变动物模型的特征及免疫因子的选择

从实验结果中我们能够发现:与正常对照组和肌肉置入组相比较,髓核置入组无论从影像学还是组织学方面均出现了显著的改变,在出现信号改变的部位我们又检测到了 IL-4、IL-17 和 IFN- $\gamma$  免疫因子的高表达现象。这说明在椎体终板或软骨下骨置入自体髓核确能够引起一系列的信号及形态变化。从核磁的检测结果不难发现,在髓核置入组中出现的 T<sub>1</sub>WI 低信号、T<sub>2</sub>WI 混杂信号与人类 Modic 改变的信号特点是及其相似的。Ma 等<sup>[13]</sup>的研究认为,髓核的向上或向下疝出可能是产生 Modic 改变的重要原因。Bobechko 和 Hirsch<sup>[14]</sup>、Gertzbein 等<sup>[15]</sup>认为髓核是一个无血管结构的组织,这样特殊的结构使

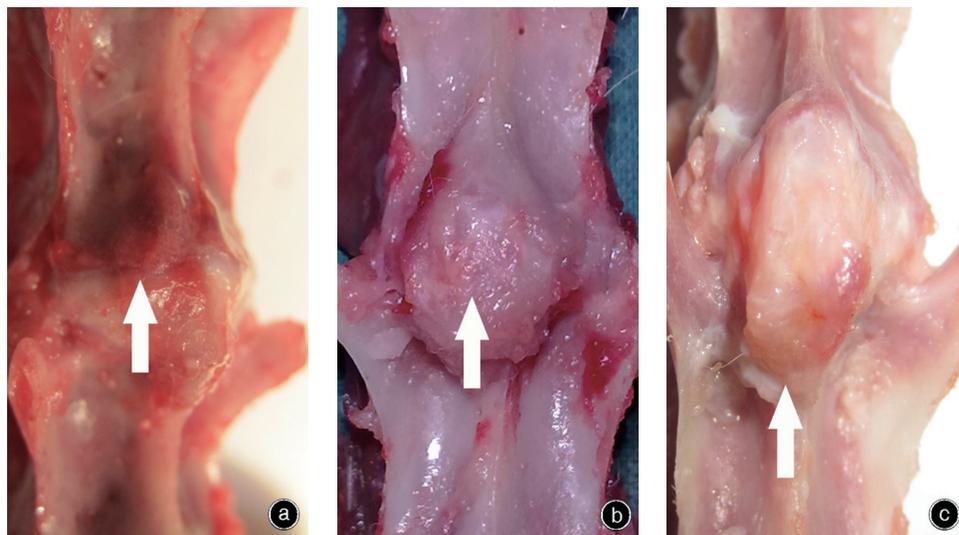


图6 髓核置入组术后大体观察 a 术后12周,可见造模部位出现明显赘生物(箭头所示) b 术后16周,赘生物(箭头所示)继续增大,颜色灰白,表面不平整 c 术后20周,随着造模时间的延长,赘生物(箭头所示)已明显跨过椎间盘,到达对侧椎体

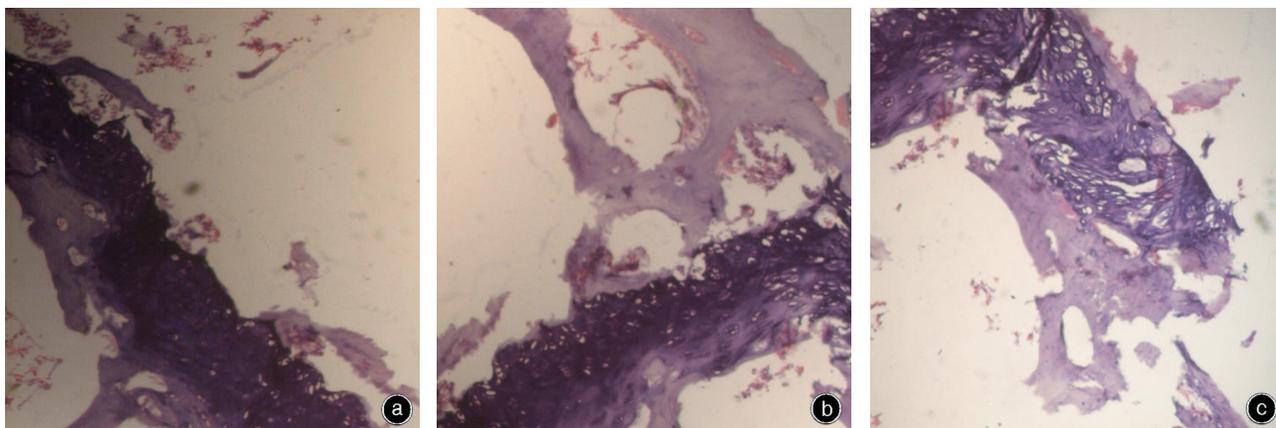


图7 对照组术后组织学观察 a 术后12周,骨小梁中的骨细胞清晰可见,造模处骺板排列规则、有序 b 术后16周,可见软骨细胞大小基本一致,未见明显增生 c 术后20周,情况同前,骨细胞及软骨细胞未见异常 HE ×40

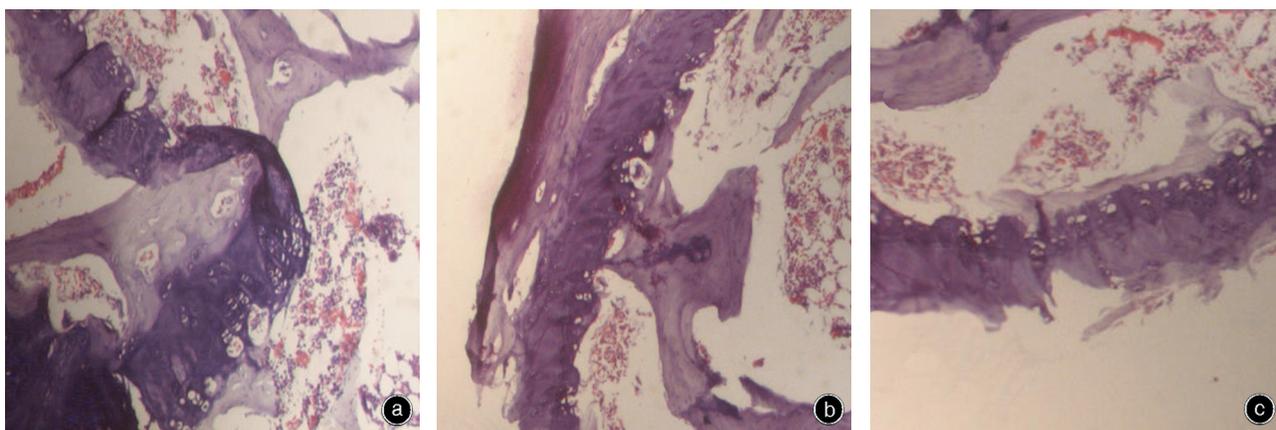


图8 肌肉置入组术后组织学观察 a 术后12周,整体情况同对照组,骨小梁及骺板排列规则 b 术后16周,未见明显骨细胞及软骨细胞增生 c 术后20周,随着造模时间的增长,未见明显异常 HE ×40

之具有独特的免疫封闭特性,当其与循环系统接触时,视为外来抗原进而诱发自身免疫反应。自身免疫反应能够诱发出大量的免疫因子,当免疫因子长期、反复的作用于组织时,便有可能使其出现信号

变化<sup>[16]</sup>。我们所检测到的高表达因子IFN- $\gamma$ 、IL-4及IL-17分别是T细胞辅助细胞族(T helper cell, Th)中Th1、Th2及Th17所分泌的特征性因子<sup>[17]</sup>,这进一步印证了Modic改变与髓核的密切关系。本实验所

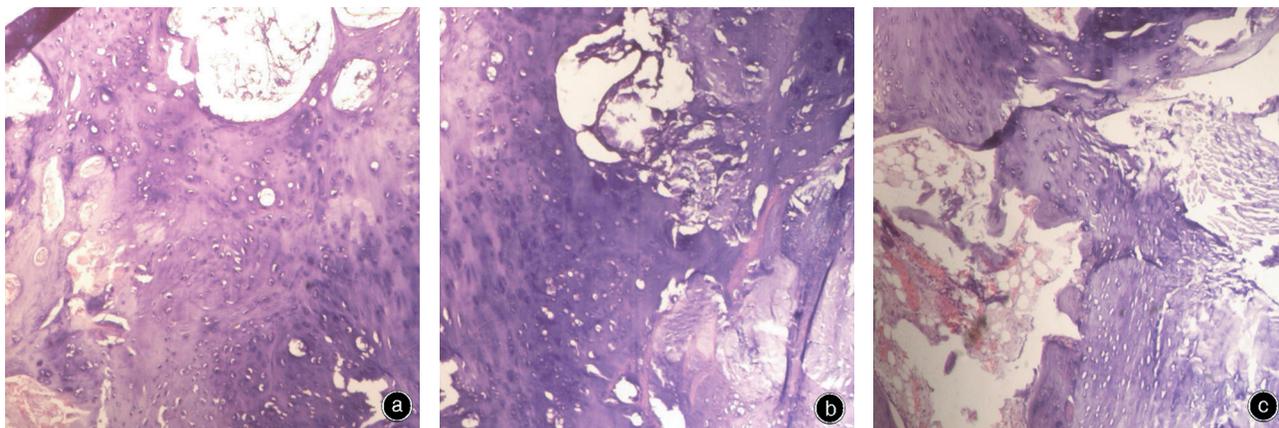


图9 髓核置入组术后组织学观察 a 术后12周,可见造模部位变化明显,大量软骨细胞增生 b 术后16周,增生现象更加明显,其中可见夹杂的类髓核样组织 c 术后20周,随着时间的增长,增生情况更加广泛,难以观察到骨小梁结构 HE ×40

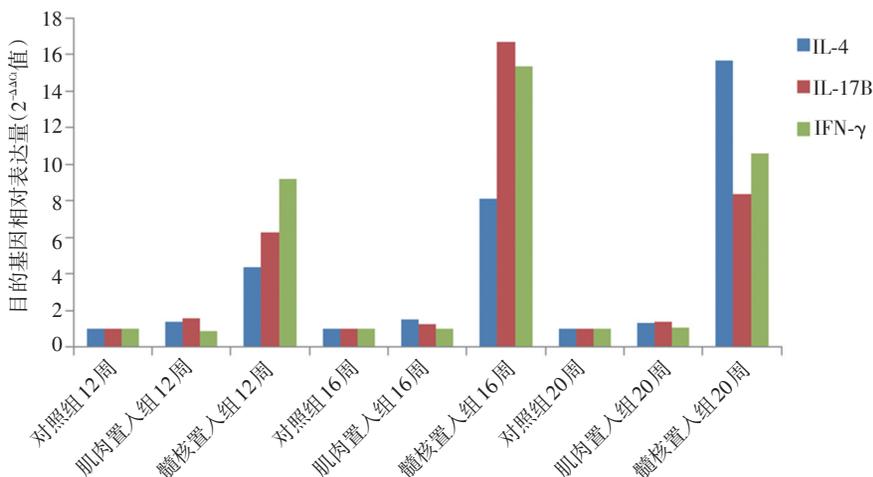


图10 与对照组及肌肉置入组相比,IL-4、IL-17B及IFN-γ在髓核置入组中的表达明显升高;对照组与肌肉置入组表达的差异无统计学意义

表2 Western blot 检测结果

组别	IL-4/ Tubulin	IL-17/ Tubulin
肌肉置入组 12周	1.44±0.07	1.33±0.16
肌肉置入组 16周	1.39±0.10	1.37±0.09
肌肉置入组 20周	1.28±0.14	1.30±0.11
髓核置入组 12周	2.61±0.11	2.29±0.09
髓核置入组 16周	2.35±0.12	2.47±0.15
髓核置入组 20周	2.01±0.19	1.92±0.15

采用的造模方法可以在一定程度上模拟出 Modic 改变的自然进程,其具有创伤小,成功率高,表达稳定等特点,且切口的深度和宽度易掌握,动物死亡率较低。

二、Modic 改变的发病机制的探讨

尽管 Modic 改变是临床的一个常见现象,但对于其发病机制却不是很清楚,学界一直存在各种学说。Albert 等<sup>[18]</sup>认为 Modic 改变的发生与机械力学

因素以及低毒性细菌感染密切相关。也有学者发现 Modic 改变更易好发于退变的间盘周围<sup>[19-20]</sup>,他们认为 Modic 改变可能与间盘退变程度关系更为密切。而 Rannou 等<sup>[21]</sup>则在出现 Modic 改变的患者体内检测到了 C 反应蛋白增高的现象。

我们在前期的相关研究中发现,髓核的自身免疫学特性可能对 Modic 改变的发病起到了重要的作用<sup>[13]</sup>。在本研究中,髓核置入组在造模后 12、16、20 周时免疫因子的 mRNA 以及蛋白表达量均出现显著升高,远高于对照组及肌肉置入组,且基本与术后时间呈正相关。这说明,免疫反应很可能参与了 Modic 改变的发生和发展进程。国外学者在对 Modic I 型改变的影像学研究中发现,其在 T<sub>2</sub>加权像的信号特点与疝出髓核的信号特征十分相似<sup>[22]</sup>,二者均表现为高信号特点。部分细胞因子,如 IL-1 等已被证实与 Modic 改变的发生密切相关<sup>[23]</sup>,携带有 IL-1 T 等位基因的患者出现 Modic 的概率比正常人高

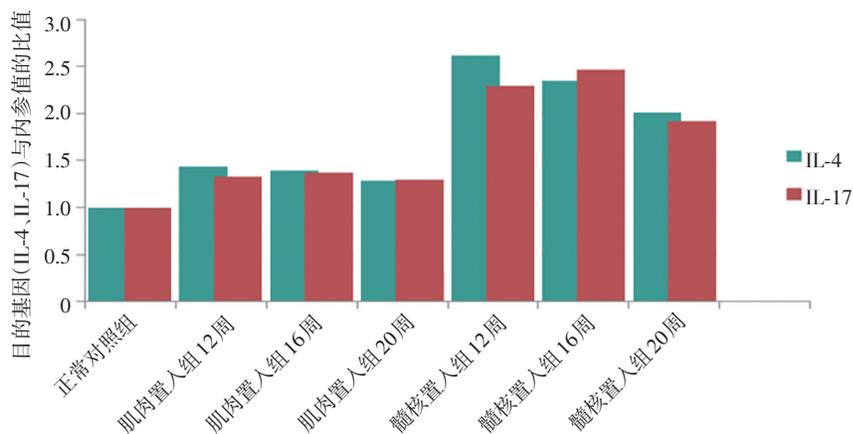


图11 各组间不同时期IL-4、IL-17的表达情况。与对照组及肌肉置入组相比,IL-4、IL-17髓核置入组中的表达量明显升高;对照组与肌肉置入组表达的差异无统计学意义

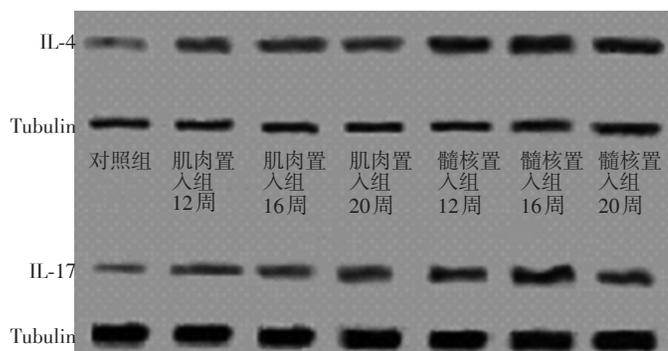


图12 Western Blot 对应条带图。免疫因子IL-4、IL-17在髓核置入组中呈高表达状态,而在其他两组中表达量较低

2.5倍。由此,我们大胆地推断,Modic改变的发病机制可能就是由于髓核的向上或向下疝出,穿过终板裂隙进入椎体,接触到循环系统诱发自身免疫反应,在自身免疫反应的作用下,髓核周围产生大量的免疫因子,这些免疫因子反复、长期地作用于终板骨,最终可能就产生了MRI的信号变化。本模型很好地模拟了这一过程,印证了Modic改变的自身免疫学说。

### 三、本研究的局限性及研究展望

本实验的动物模型虽然能够为研究Modic改变提供一个可行的动物平台,但尚存在一些问题:首先,尽管本实验是基于活体动物模型上的,但考虑到动物和人体在生理结构上的不同,其实验结果仍不能直接地反映反应出Modic改变对人椎间盘所造成的真实效果;其次,Modic改变分为3种类型,在本实验中尽管记录的多个时间点,但仅模拟出一种Modic改变类型。下一步需进一步改进实验时间,使其能够观察到更多的信号变化,从而使结果更具代表性。综上所述,我们的实验结果表明终板处置入自体髓核确能够引起椎体的信号及形态变化,髓

核的自身免疫学特性可能在Modic改变的发生发展过程中发挥了重要作用。该动物模型为进一步研究Modic改变提供了一个很好的平台和方向。

### 参 考 文 献

- [1] Kjaer P, Korsholm L, Bendix T, et al. Modic changes and their associations with clinical findings [J]. Eur Spine J, 2006, 15(9): 1312-1319.
- [2] de Roos A, Kressel H, Spritzer C, et al. MR imaging of marrow changes adjacent to end plates in degenerative lumbar disk disease[J]. AJR Am J Roentgenol, 1987, 149(3): 531-534.
- [3] Modic MT, Steinberg PM, Ross JS, et al. Degenerative disk disease: assessment of changes in vertebral body marrow with MR imaging[J]. Radiology, 1988, 166(1 Pt 1): 193-199.
- [4] Mann E, Peterson CK, Hodler J. Degenerative marrow (modic) changes on cervical spine magnetic resonance imaging scans: prevalence, inter- and intra-examiner reliability and link to disc herniation[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2011, 36(14): 1081-1085.
- [5] Jensen TS, Kjaer P, Korsholm L, et al. Predictors of new vertebral endplate signal (Modic) changes in the general population [J]. Eur Spine J, 2010, 19(1): 129-135.
- [6] Kääpä E, Luoma K, Pitkaniemi J, et al. Correlation of size and type of modic types 1 and 2 lesions with clinical symptoms: a de-

- scriptive study in a subgroup of patients with chronic low back pain on the basis of a university hospital patient sample[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2012, 37(2): 134-139.
- [7] Villarreal-Arroyo M, Mejia-Herrera JC, Larios-Forte MC. Incidence of Modic degenerative changes in patients with chronic lumbar pain at Monterrey Regional ISSSTE Hospital[J]. *Acta Ortop Mex*, 2012, 26(3): 180-184.
- [8] Wu HL, Ding WY, Shen Y, et al. Prevalence of vertebral endplate modic changes in degenerative lumbar scoliosis and its associated factors analysis[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2012, 37(23): 1958-1964.
- [9] 韩超, 马信龙, 马剑雄, 等. MRI上腰椎终板信号改变的影响因素分析——性别、体重、劳动量及吸烟与Modic改变的相关性[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2011, 21(3): 222-225.
- [10] Sobajima S, Kompel JF, Kim JS, et al. A slowly progressive and reproducible animal model of intervertebral disc degeneration characterized by MRI, X-ray, and histology[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2005, 30(1): 15-24.
- [11] Masuda K, Aota Y, Muehleman C, et al. A novel rabbit model of mild, reproducible disc degeneration by an annulus needle puncture: correlation between the degree of disc injury and radiological and histological appearances of disc degeneration[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2005, 30(1): 5-14.
- [12] Han B, Zhu K, Li FC, et al. A simple disc degeneration model induced by percutaneous needle puncture in the rat tail[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2008, 33(18): 1925-1934.
- [13] Ma XL, Ma JX, Wang T, et al. Possible role of autoimmune reaction in Modic Type I changes[J]. *Med Hypotheses*, 2011, 76(5): 692-694.
- [14] Bobechko WP, Hirsch C. Auto-immune response to nucleus pulposus in the rabbit[J]. *J Bone Joint Surg Br*, 1965, 47: 574-580.
- [15] Gertzbein SD, Tile M, Gross A, et al. Autoimmunity in degenerative disc disease of the lumbar spine[J]. *Orthop Clin North Am*, 1975, 6(1): 67-73.
- [16] Careta MF, Leite Cda C, Cresta F, et al. Prospective study to evaluate the clinical and radiological outcome of patients with scleroderma of the face[J]. *Autoimmun Rev*, 2013, 12(11): 1064-1069.
- [17] Bourke CD, Nausch N, Rujeni N, et al. Integrated analysis of innate, Th1, Th2, Th17, and regulatory cytokines identifies changes in immune polarisation following treatment of human schistosomiasis[J]. *J Infect Dis*, 2013, 208(1): 159-169.
- [18] Albert HB, Kjaer P, Jensen TS, et al. Modic changes, possible causes and relation to low back pain[J]. *Med Hypotheses*, 2008, 70(2): 361-368.
- [19] Kerttula L, Luoma K, Vehmas T, et al. Modic type I change may predict rapid progressive, deforming disc degeneration: a prospective 1-year follow-up study[J]. *Eur Spine J*, 2012, 21(6): 1135-1142.
- [20] Mann E, Peterson CK, Hodler J, et al. The evolution of degenerative marrow (Modic) changes in the cervical spine in neck pain patients[J]. *Eur Spine J*, 2013, 23(3): 584-589.
- [21] Rannou F, Ouanes W, Boutron I, et al. High-sensitivity C-reactive protein in chronic low back pain with vertebral end-plate Modic signal changes[J]. *Arthritis Rheum*, 2007, 57(7): 1311-1315.
- [22] Luoma K, Vehmas T, Grönblad M, et al. Relationship of Modic type I change with disc degeneration: a prospective MRI study[J]. *Skeletal Radiol*, 2009, 38(3): 237-244.
- [23] Karppinen J, Solovieva S, Luoma K, et al. Modic changes and interleukin 1 gene locus polymorphisms in occupational cohort of middle-aged men[J]. *Eur Spine J*, 2009, 18(12): 1963-1970.

(收稿日期:2013-12-08)

(本文编辑:马宏庆)