

· 基础研究 ·

电针“夹脊穴”对压力诱导腰椎间盘突出退变模型兔髓核细胞超微结构的影响

王昆秀¹ 邹璟^{1,2} 汪敏¹ 张艳琳¹ 黄国付^{1,3}

摘要 目的 观察轴向压力诱导的椎间盘 (IVD) 退变 (IDD) 模型兔髓核细胞形态结构的变化, 探究电针对其变化的影响。方法 将雄性新西兰大白兔随机分为正常组、模型组、假模型组、模型+电针组、模型+假电针组, 每组 5 只。采用造模器对 L4~5 IVD 施加轴向压力复制 IDD 模型, 假模型组仅安装造模器而不施加压力。造模成功后, 模型+电针组电针 L4、L5 双侧“夹脊穴”; 模型+假电针组仅针刺, 无电针; 正常组、模型组、假模型组仅捆绑, 不予其他干预, 各组干预均 1 次/天, 20 min/次, 连续 6 天为 1 个疗程, 共 4 个疗程。观察并记录各组兔的一般情况、行走疼痛评分和综合反应情况评分, 采用核磁共振成像 (MRI) 比较各组 IVD 的信号强度, 采用 HE 染色和透射电镜观察各组 IVD 髓核组织形态及亚细胞结构。结果 正常组一般情况良好, 未出现行走疼痛现象, IVD 信号呈均匀的高亮影, 髓核组织形态正常, 髓核细胞线粒体结构清晰完整, 假模型组上述情况基本类似于正常组; 与正常组比较, 模型组一般情况不佳, 行走疼痛评分明显升高 ($P<0.01$), 综合反应情况评分显著降低 ($P<0.01$), IVD 信号消失, 髓核组织破坏, 髓核细胞数量减少、线粒体结构缺失, 胶原纤维沉积; 与模型组比较, 模型+电针组上述现象不同程度好转, 行走疼痛评分降低 ($P<0.05$), 综合反应情况评分升高 ($P<0.05$), 模型+假电针组改善不明显。结论 轴向压力可显著破坏髓核组织及细胞形态结构, 电针能够不同程度地改善其诱导的退变 IVD 髓核细胞线粒体超微的改变, 延缓 IDD。

关键词 电针; 椎间盘退变; 髓核细胞; 超微结构; 兔

Effect of Electroacupuncture at "Jiaji" on Ultrastructure of Nucleus Pulposus Cells in Rabbit Models of Lumbar Disc Degeneration Induced by Pressure WANG Kun-xiu¹, ZOU Jing^{1,2}, WANG Min¹, ZHANG Yan-lin¹, and HUANG Guo-fu^{1,3} 1 School of Acupuncture and Bone, Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Wuhan (430061); 2 Department of Acupuncture, First Hospital of Wuhan, Wuhan (430000); 3 Department of Chinese Medicine, Longgang District Maternity & Child Healthcare Hospital of Shenzhen City, Guangdong (518172)

ABSTRACT Objective To observe the morphological and structural changes of nucleus pulposus cells induced by axial pressure in intervertebral disc (IVD) degeneration (IDD) model rabbits, and to explore the effects of electroacupuncture (EA) on these changes. **Methods** Male New Zealand rabbits were randomly divided into the following groups: normal control, model, sham, model+EA, and model+sham EA, 5 rabbits in each group. In order to replicate the IDD model, longitudinal pressure was applied to the L4~5 IVD of rabbits using a modeling device. The sham model group was only equipped with a modeling device but no pressure. In order to replicate the IDD model, the L4~5 IVD of the rabbits were subjected to longitudinal pressure by the modeling device, and the sham group was only installed with the modeling device but without pressure. After successful modeling, EA was applied to the L4 and L5 "Jiaji" of the model+EA group. The model+sham EA group was only given acupuncture without EA. The normal control group, model group, and sham group were only bundled without other interventions. Each group was intervened for 4 courses, and their intervention was applied for 20 min each time,

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (No. 81774392; No. 82074517)

作者单位: 1. 湖北中医药大学针灸骨伤学院 (武汉 430061); 2. 湖北省武汉市第一医院针灸科 (武汉 430000); 3. 广东省深圳市龙岗区妇幼保健院中医科 (广东 518172)

通讯作者: 黄国付, Tel: 0755-89205754, E-mail: 531529128@qq.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20220905.311

once a day. Continuous treatment of 6 days was a course of treatment, 4 courses in total. The general condition, walking pain score, and comprehensive reactions of each group of rabbits were observed and recorded. The signal intensities of the IVD of the rabbits in each group were compared by magnetic resonance imaging (MRI). The morphology and subcellular structure of the nucleus pulposus of the IVD were observed by HE staining and electron microscopy. **Results** The general condition of the normal group was favorable, and they walked without pain. The signal of the IVD was uniform, the shape of the nucleus pulposus tissue was normal, and the structure of the nucleus pulposus cells was clear and complete. The sham group was basically similar to the normal group. Compared with the normal group, the general condition of the rabbits in the model group was not favorable, walking pain score increased ($P<0.01$), overall response scores decreased ($P<0.01$), with disappeared IVD disc signals, destructed nucleus pulposus tissues, reduced number of nucleus pulposus cells, deposited collagen fibers, and lost mitochondrial structure in nucleus pulposus cells. Compared with the model group, the above phenomena in the model+EA group were improved to various degrees, and walking pain score decreased ($P<0.05$), overall response scores increased ($P<0.05$). But these symptoms were not significantly improved in the model+sham EA group. **Conclusions** Long-term longitudinal pressure damaged the nucleus pulposus tissue and cell morphological structure of the IVD significantly. EA reversed the pressure-induced morphological changes of the nucleus pulposus cells of the IVD and postponed IDD.

KEYWORDS electroacupuncture; intervertebral disc degeneration; nucleus pulposus cell; cell ultrastructure; rabbit

腰痛是发达国家和发展中国家致残的首要原因之一,可影响患者的生活质量,据统计,80%的成年人会出现不同程度腰痛症状^[1,2]。由炎症反应、细胞衰老、基质破坏等多种机制诱发的腰椎间盘突出(intervertebral disc degeneration, IDD)是腰痛的主要病因^[3]。髓核组织是IDD过程中首先出现退行性改变的部位^[4],髓核细胞的衰老是退变椎间盘(intervertebral disc, IVD)的重要特征,与IDD的进展呈正相关^[5]。因此,调节髓核组织的衰老可能是治疗IDD的可行途径。然而,目前镇痛药、抗炎药、物理治疗仅限于对症治疗而非解除病因,手术干预存在并发症,远期疗效不佳,且不适合早期IDD的治疗,这些疗法既不能恢复IVD的生理功能,也不能阻止IDD的进展^[6,7]。本团队研究发现,电针能够调节轴向压力诱导的模型兔IVD的细胞凋亡、基质合成和降解以及软骨终板水通道蛋白等多种蛋白的表达,从而延缓IDD^[8,9]。然而电针能否通过影响髓核细胞的超微结构对退变的IVD产生影响尚未明确,本实验拟从细胞形态学及亚细胞结构的角度进一步探讨电针延缓IDD的可能机制。

材料与方法

1 动物及分组 25只5~6个月月龄的清洁级健康雄性新西兰大白兔,体重 (3.5 ± 0.5) kg,由湖北省医学科学研究院实验动物中心提供,许可证号:SCXK(鄂)2018-0022、SCXK(鄂)2018-

0011,采用架式笼养喂养于湖北中医药大学实验中心的SPF级标准动物实验室,在湿度50%~60%,温度23~27℃,明暗交替12h,通风10~20次/h的条件下适应性喂养3周。采用随机数字表法将兔分为5组:正常组、模型组、假模型组、模型+电针组、模型+假电针组,每组5只。实验过程严格遵守科技部[2006]398号《关于善待实验动物的指导性意见》^[10]中的相关条例。

2 药物 10%水合氯醛(Phygene公司,批号:PH1818);0.9%氯化钠溶液(四川科伦药业股份有限公司,批号:H20083400);0.2%替硝唑注射液(浙江杭康药业有限公司,批号:H20010709);注射用青霉素钠[山东圣旺药业股份有限公司,批号:兽药字(2014)150061248];1%碘伏消毒液(青岛海氏海诺英诺威消毒有限公司,批号:Q/370285HNW)。

3 主要试剂和仪器 PBS缓冲液(北京索莱宝生物科技有限公司,批号:P1020);4%多聚甲醛(厦门安永博科技有限公司,批号:2021805A);2.5%戊二醛电镜固定液(Alfa Aesar中国化学有限公司,批号:ST1140);苏木素染液、伊红染液(厦门安永博科技有限公司,批号:2021805A)。电钻(JIZ-SH09-10C6910JE,上海锐奇工具公司);克氏针 $(1.5\times150\text{ mm})$ (天津丰翼医疗器械有限公司);造模器(连接杆、弹簧装置,定制于武汉东风汽车设备制造厂);华佗牌针灸针 $(0.3\times25\text{ mm})$,苏州医疗

用品厂有限公司);电针治疗仪(HANS-200 A,南京济生医疗科技公司);核磁共振仪(SignaHDx3.0T,美国GE公司);脱水机(JJ-12 J,武汉俊杰电子有限公司);切片机(RM 2016,上海徕卡仪器有限公司);包埋机(KD-BM,浙江省金华市科迪仪器设备有限公司);电热恒温鼓风干燥箱(DHG9203A,上海精宏实验设备有限公司);透射电镜(HT7700-SS,日本HITACHI)。

4 造模、分组及取材

4.1 造模方法 参照文献[11]方法,将兔放入固定箱中固定,耳缘静脉注射10%的水合氯醛(1 mL/kg)进行麻醉,以角膜反射和四肢肌肉收缩反应消失为麻醉成功的标志,俯卧位于操作台上,腰背部备皮以暴露L4~5节段处的皮肤,1%碘伏消毒后在L4、L5棘突一侧下方约1.5 cm处做平行于后正中线的直切口,依次切开皮肤、筋膜,钝性分离肌肉后暴露椎体,用电钻分别在两椎体上各钻入1根克氏针,克氏针两端安装连接杆,连接杆之间安装弹簧装置,用0.9%的氯化钠溶液和0.2%替硝唑注射液冲洗创口以止血,缝合手术创口后调节弹簧压力至200 N,持续对IVD轴向加压,术后连续5天肌肉注射青霉素(4×10^6 U, 1次/天)预防感染。28天后拆除造模器,行核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检查以判断是否成模,以IVD呈现黑色低信号或无信号影作为成模的标志^[8]。本次实验模型组和模型+电针组各有1只兔造模失败,假模型组1只兔因克氏针穿入脊髓而死亡,剔除造模失败和死亡的兔并补齐样本量。

4.2 干预方法 正常组:不造模,仅予同模型+电针组相同的捆绑,不予其他干预。模型组:造模,并予同模型+电针组相同的捆绑,不予其他干预。假模型组:干预方法同模型组,但造模时仅安装造模器而不加压。模型+电针组:从造模成功后的第1天开始,予以电针L4、L5“夹脊穴”^[12]干预,操作方法:将兔俯卧位捆绑于操作台上,定位L4、L5双侧“夹脊穴”并常规消毒,持针灸针速刺进针至一定深度(5~8 mm),施以平补平泻手法捻转针柄至针下有沉涩感,同侧“夹脊穴”连接一组电针,共连接2组电针,设置电针治疗仪参数(疏密波,波频2 Hz/15 Hz,强度1~2 mA, 20 min/次)。模型+假电针组:干预方法同模型+电针组,但不予电针刺激。上述各组的干预均每天1次,连续6天为1个疗程,每个疗程间隔1天,共干预4个疗程。

4.3 取材方法 将兔麻醉(麻醉方法同造模过

程)后,采用空气栓塞法迅速将其处死,俯卧位于操作台上,沿后正中线切开腰部皮肤,依次划开筋膜、骨骼肌、韧带等组织以暴露椎体,将腰段脊柱取出,剔除附着在L4、L5椎体上的骨骼肌和韧带后,用PBS缓冲液冲洗干净,迅速置于冰袋上,取出第4椎间盘并沿纵轴对切成大小相似的两份。1份固定于4%多聚甲醛中,用于HE染色实验;另外1份固定于2.5%戊二醛中,用于透射电镜实验。

4.4 观察指标及方法

4.4.1 一般情况 自造模后至取材前,由同一实验人员观察并记录各组兔的外观、皮毛、精神、饮食、活动、对外界刺激的反应等情况。

4.4.2 行走疼痛评分及综合反应情况评分 取材前1天,将兔逐个置于无障碍空间自由行走并适应30 min。参照文献[13]的评分标准对兔进行行走疼痛评分(0分:行走时姿势正常;1分:行走时后肢轻度跛行;2分:行走时后肢跛行介于1~3分之间;3分:行走时后肢严重跛行;4分:行走时匍匐前行,基本不用后肢)。参照文献[14]的评分标准对兔进行综合反应情况评分(精神状态评分:0分:神情迟滞;1分:神情缓慢;2分:神情机敏。饮食评分:0分:饮食极少或无;1分:饮食减半;2分:饮食正常。活动评分:0分:活动明显减少;1分:活动适中;2分:活动自如。对外界的刺激评分:0分:无反应;1分:反应不明显;2分:反应明显。综合反应情况评分=精神状态评分+饮食评分+活动评分+对外界的刺激评分)。

4.4.3 核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI) 观察IVD信号强度 所有兔于取材前1天,采用核磁共振仪对腰椎进行矢状位平扫,相关参数:TR 2 300 ms, TE 64.9 ms, NEX4, 矩阵128×64, 层厚4 mm, 间距1 mm, FOV 34 cm, 扫描时间37 s, 采集图像并观察IVD的高度和信号强度。

4.4.4 HE染色观察IVD髓核组织形态学 取部分髓核组织于4%多聚甲醛中固定24 h,取出固定好的组织置于梯度酒精中脱水,浸入二甲苯中透明,浸蜡包埋并修整蜡块,将修整好的蜡块置于切片机上切片(厚约4 μm),40℃温水摊片,60℃烘干保存,脱蜡,脱二甲苯,洗去酒精后用苏木素染色3~8 min, 1%盐酸酒精分化, 1%氨水返蓝,伊红染液染色1~3 min,脱水至透明,中性树胶封片。显微镜下观察IVD髓核组织的形态并采集图像进行分析。

4.4.5 透射电镜观察IVD髓核细胞亚细胞结构 取部分髓核组织在4℃下用2.5%戊二醛和0.1 mol/L

磷酸缓冲液固定 2~4 h, 0.1 mol/L 磷酸缓冲液漂洗 3 次, 15 min/次, 在室温下用 1% 锇酸和 0.1 mol/L 磷酸缓冲液固定 2 h 后漂洗, 酒精梯度脱水后包埋过夜, 60℃ 聚合 48 h, 切片 (厚约 60~80 nm) 后, 铀铅双染色, 室温干燥过夜。透射电镜下观察髓核细胞膜系统、线粒体变化并采集图像进行分析。

4.5 统计学方法 采用 SPSS 25.0 数据分析软件进行数据分析, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 符合正态分布时采用单因素方差分析, 多组间比较采用 LSD 法, 不符合正态分布时采用非参数检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组兔一般情况比较 造模期间, 正常组未见明显异常, 其余各组活动量、饮水量和进食量明显减少, 精神萎靡, 皮毛逐渐杂乱变黄、光泽度降低, 大便偏稀, 反应变迟钝, 假模型组上述症状总体较轻。干预期间, 模型组上述症状未见明显改善, 且抓持时遗尿现象频繁, 反应迟钝或易激惹; 模型 + 电针组和模型 + 假电针组上述症状不同程度好转, 且模型 + 电针组较模型 + 假电针组症状改善更加明显, 好转更快。

2 各组兔行走疼痛评分、综合反应情况评分比较 (表 1) 正常组、假模型组行走疼痛评分为 0; 与正常组比较, 模型组行走疼痛评分明显升高, 综合反应情况评分显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 模型 + 电针组行走疼痛评分降低, 综合反应情况评分升高 ($P < 0.05$)。与模型 + 电针组比较, 模型 + 假电针组综合反应情况评分降低 ($P < 0.05$)。

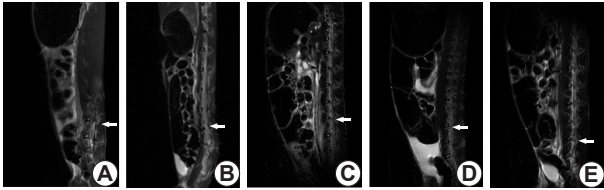
表 1 各组兔行走疼痛评分和综合反应情况评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	行走疼痛评分	综合反应情况评分
正常	5	0.00 ± 0.00	8.00 ± 0.00
模型	5	2.80 ± 0.37*	2.00 ± 0.55*
假模型	5	0.00 ± 0.00	7.00 ± 0.32
模型 + 电针	5	1.20 ± 0.37 [△]	3.60 ± 0.51 [△]
模型 + 假电针	5	2.00 ± 0.32	2.20 ± 0.37 [▲]

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, [△] $P < 0.05$; 与模型 + 电针组比较, [▲] $P < 0.05$

3 各组兔 IVD 信号强度比较 (图 1) MRI 所示: 正常组 L4~5 IVD 信号均匀, 呈白色高亮影, IVD 高度正常。与正常组比较, 模型组 IVD 信号显著降低, 整体呈黑色无信号影, 提示髓核水分减少甚至丢失, 椎间隙变窄; 假模型组未见明显异常。与模型组比较, 模型 + 电针组信号强度有所改善, 信号欠均匀, 呈灰

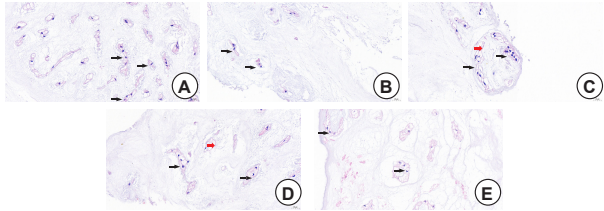
色信号影; 模型 + 假电针组信号强度改善不明显, 呈黑色较低信号影。



注: A 为正常组; B 为模型组; C 为假模型组; D 为模型 + 电针组; E 为模型 + 假电针组; 白色箭头所指为 L4-5 椎间盘; n 为 5

图 1 各组兔 IVD 信号强度比较

4 各组兔 IVD 髓核组织形态学比较 (图 2) HE 染色所示: 正常组 IVD 髓核基质中, 胶原呈均匀分布的网状结构; 髓核细胞分布均匀, 呈单独或团块状聚集分布, 以脊索细胞和类软骨细胞为主, 其中脊索细胞呈圆形、椭圆形或梭型, 胞体较大, 胞浆中有丰富的包涵体, 细胞核呈圆形; 类软骨细胞胞体较小, 形态单一, 细胞核呈圆形。与正常组比较, 模型组髓核基质中胶原排列紊乱, 胶原纤维不规则沉积, 出现数量不等、大小不等的空泡, 聚集成絮状片块, 细胞之间裂隙形成, 伴有髓核组织坏死; 髓核细胞分布不均匀, 数量明显减少, 残存的脊索细胞包涵体明显减小或消失; 假模型组髓核基质中胶原和细胞的形态与正常组基本相似, 可见呈团块状聚集的脊索细胞, 细胞数量未见明显减少。与模型组比较, 模型 + 电针组髓核基质中胶原分布基本均匀, 纤维沉积有所改善; 髓核细胞数量增多, 包涵体消失减少, 细胞裂隙变小; 模型 + 假电针组髓核细胞排列紊乱, 被破坏的髓核基质和细胞形态未见明显改善。

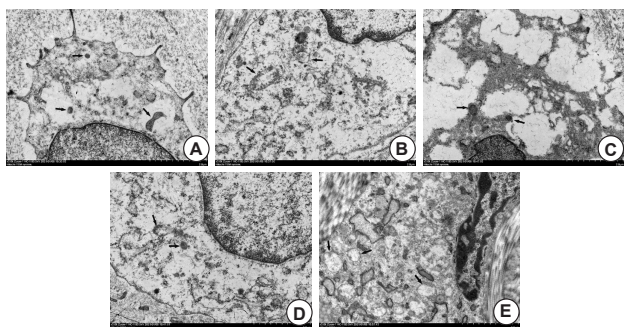


注: A 为正常组; B 为模型组; C 为假模型组; D 为模型 + 电针组; E 为模型 + 假电针组; 黑色箭头所指为髓核细胞; 红色箭头所指为包涵体; n 为 5

图 2 各组兔 IVD 髓核组织形态学比较 (HE, × 40)

5 各组兔 IVD 髓核细胞亚细胞结构比较 (图 3) 透射电镜所示: 正常组中, 髓核细胞线粒体的结构完整, 双层膜结构清晰可见, 形态规则, 多呈椭圆形, 线粒体脊排列连续, 肌丝结构、糖原颗粒清晰可见。与正常组比较, 模型组髓核细胞线粒体膜缺失, 界限不清, 形态肿胀, 呈类圆形, 线粒体脊大部分消失, 线粒体基质被破坏, 正常的颗粒密度丢失; 假模型组

线粒体颜色较深,形态、结构基本正常。与模型组比较,模型+电针组线粒体膜缺失和形态肿胀好转,线粒体脊部分断裂,糖原颗粒基本可见,线粒体基质被破坏,呈斑片状;模型+假电针组线粒体改善不明显,线粒体明显肿胀,线粒体嵴消失。



注: A 为正常组; B 为模型组; C 为假模型组; D 为模型+电针组; E 为模型+假电针组; 黑色箭头所指为线粒体; n 为 5
图 3 各组兔 IVD 髓核细胞亚细胞结构比较 (透射电镜, $\times 5000$)

讨 论

IVD 是位于椎体之间的环状纤维软骨组织,由外层纤维环,内层髓核以及连接上下椎体的软骨终板组成。它是传递和吸收脊柱的轴向压力,维持脊柱多轴柔韧性和稳定性的重要结构^[15, 16]。髓核组织所需的营养主要来自于软骨终板毛细血管床的弥散渗透^[17],本团队前期研究发现,电针夹脊穴能够增强软骨终板水通道蛋白的阳性表达,改善退变 IVD 组织营养代谢^[18]。此外,健康 IVD 功能的发挥有赖于富含蛋白多糖、II 型纤维蛋白和弹性蛋白的髓核组织,及其细胞结构的完整和代谢的均衡^[19, 20]。然而,随着年龄的增长或长期超负荷刺激,髓核细胞数量减少、功能降低,细胞外基质和蛋白多糖合成减少,引起 IVD 含水量降低,髓核从富含弹性的凝胶状变为较硬的纤维化结构,生物力学功能降低,最终导致 IDD^[7, 19]。因此,有人认为髓核是 IDD 发病的起源,髓核细胞在 IDD 的早期就已经表现出衰老现象^[4, 19]。髓核组织中的细胞主要是脊索细胞和类软骨细胞^[21]。脊索细胞是体积较大、富含囊泡状包涵体的圆形或椭圆形细胞,能够诱导类软骨细胞增殖,增加蛋白多糖的合成,促进细胞外基质的合成与代谢^[20],其包涵体通过离子泵泵出内容物,从而调节脊索细胞的体积、张力和渗透压,以抵御外界损伤^[22]。类软骨细胞由脊索细胞转变而来,主要合成 II 型纤维蛋白及蛋白多糖^[21, 23]。由此可见,脊索细胞的减少和消失是 IDD 发生的重要因素^[24]。Kroeber MW 等^[11]发现,对兔 IVD 施加轴向压力 2 周后,出现椎间隙变窄、细胞死亡数目增多等典型的 IVD 退行性改变,卸载压力后这

些退变不可逆转。本研究显示,对 IVD 施加轴向压力后 MRI 信号消失,髓核组织明显退变,主要表现为髓核细胞外基质破坏和脊索细胞大量消失,以及包涵体的减小或消失,而假模型组未出现上述改变,说明压力诱导了上述髓核组织的退变,提示造模成功,验证了不予任何干预的情况下,压力诱导的 IVD 退变短时间内不可逆转;经电针治疗后,曾受压的 IVD 变为低信号,髓核细胞以及包涵体的数量、形态均有所改善,并伴随髓核基质胶原纤维沉积的好转,而模型+假电针组改善并不明显,说明电针在一定程度上改善了轴向压力导致的髓核细胞形态学的改变,并能促进髓核基质的重建,延缓 IDD 进展。

维持 IVD 细胞功能活动所需的能量主要来自于线粒体进行氧化磷酸化反应时所产生的三磷酸腺苷^[25]。线粒体内各种生化反应的正常进行依赖于线粒体膜、线粒体嵴、线粒体基质等功能区的完整。IVD 线粒体受损与 IDD 的发生有关^[15, 26]。研究发现,异常压力、高氧、高糖等不利因素会使线粒体通过氧化应激^[27]、细胞凋亡^[28]、线粒体自噬^[29]等途径诱发 IVD 的炎症反应、细胞衰老以及基质破坏,从而促进 IDD^[30]。Gruber HE 等^[31]培养人类退变的 IVD 细胞并观察其线粒体超微结构,发现线粒体形态异常、颜色深染、嵴肿胀或不清晰,并伴随细胞生物能量学的缺陷。本研究中的模型组亦观察到与之相似的线粒体超微结构变化,而假模型组则无明显改变,提示异常压力诱导的 IDD 可能是通过破坏 IVD 髓核细胞线粒体的完整性,从而影响线粒体正常的功能活动和能量供应而实现的;电针治疗后,线粒体膜和线粒体嵴的损伤有所好转,而模型+假电针组则无明显改善,提示电针对异常压力下髓核细胞形态学的维护可能与其改善退变 IVD 髓核细胞线粒体的超微结构,从而影响细胞内能量的供给有关。

椎体属“骨”,IVD、韧带等软组织属“筋”^[32]。《素问·痿论》言:“宗筋主束骨而利关节。”有学者认为 IDD 的发病与筋骨关系失衡有关^[32]。“夹脊穴”位于脊柱两侧,刺之可刺激脊柱周围的纤维环、韧带等组织收缩,改善血液循环^[33],从而调节脊柱的筋骨关系,改善腰腿痛症状。李鹏等^[34]通过解剖发现,腰“夹脊穴”位于脊神经后支的汇聚点以及分支走行的部位上,与 T12~L4 脊神经密切相关。针刺“夹脊穴”可促进神经修复,其治疗 IDD 相关疾病的有效性已得到验证^[35, 36]。本研究中,模型+电针组兔在行走疼痛症状、综合反应情况评分以及活动、饮食、精神等一般状况方面均较模型组有显著好转,一方面映证了

电针“夹脊穴”对 IDD 相关疾病的有效性,另一方面提示其有效性的实现与电针“夹脊穴”改善了退变 IVD 髓核组织及细胞超微结构有关。

总之,线粒体结构改变和功能失调可能是压力导致 IDD 的重要细胞内环节,而电针能够促进压力诱导的 IVD 髓核细胞线粒体超微结构的改善,从而有利于髓核组织及其细胞形态结构的修复或重建。然而,本研究仅从髓核细胞形态学及超微结构方面探讨了电针“夹脊穴”改善 IDD 的可能机制,其相关分子通路的研究尚未涉及,后续将进一步完善该方面的研究。并且,由于兔与人类行走方式不同,本研究电针所产生的效果是在卸载轴向压力的前提下产生的,因此真实的临床效果与本研究可能存在一定的差距。此外,本研究所采用的在体 IVD 轴向加压造模法虽然较好的模拟了人体 IVD 力学负荷的动态过程,更加符合 IVD 真实受力环境,但其局限性来源于腰椎穿刺所造成的组织损伤,这也是后期需要完善之处。

利益冲突:无。

参 考 文 献

- [1] Maher C, Underwood M, Buchbinder R. Non-specific low back pain[J]. *Lancet*, 2017, 389 (10070): 736-747.
- [2] Knezevic NN, Candido KD, Vlaeyen JWS, et al. Low back pain[J]. *Lancet*, 2021, 398 (10294): 78-92.
- [3] Wang Y, Che M, Xin J, et al. The role of IL-1 β and TNF- α in intervertebral disc degeneration[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 131: 110660.
- [4] Tavakoli J, Diwan AD, Tipper JL. Elastic fibers: The missing key to improve engineering concepts for reconstruction of the nucleus pulposus in the intervertebral disc[J]. *Acta Biomater*, 2020, 113: 407-416.
- [5] Mohanty S, Dahia CL. Defects in intervertebral disc and spine during development, degeneration, and pain: new research directions for disc regeneration and therapy[J]. *Wires Dev Biol*, 2019, 8 (4): e343.
- [6] Kamali A, Ziadlou R, Lang G, et al. Small molecule-based treatment approaches for intervertebral disc degeneration: current options and future directions[J]. *Theranostics*, 2021, 11 (1): 27-47.
- [7] Zheng L, Cao Y, Ni S, et al. Ciliary parathyroid hormone signaling activates transforming growth factor- β to maintain intervertebral disc homeostasis during aging[J]. *Bone Res*, 2018, 6: 21.
- [8] Huang GF, Zou J, Shi J, et al. Electroacupuncture stimulates remodeling of extracellular matrix by inhibiting apoptosis in a rabbit model of disc degeneration[J]. *Evid-Based Complement Alternat Med*, 2015: 386012.
- [9] Huang GF, Zou J, Shi J, et al. The effect of electroacupuncture on the extracellular matrix synthesis and degradation in a rabbit model of disc degeneration[J]. *Evid-Based Complement Alternat Med*, 2014: 731395.
- [10] 中华人民共和国科学技术部. 关于发布《关于善待实验动物的指导性意见》的通知(国科发财字[2006]398号)[J]. *畜牧兽医科技信息*, 2007, 1 (4): 35-36.
- [11] Kroeber MW, Unglaub F, Wang H, et al. New *in vivo* animal model to create intervertebral disc degeneration and to investigate the effects of therapeutic strategies to stimulate disc regeneration[J]. *Spine*, 2002, 27 (23): 2684-2690.
- [12] 郭义主编. 实验针灸学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2016: 300-320.
- [13] 陈荣涛, 寿康全, 付纳新, 等. 椎间盘内注射医用臭氧对椎间盘退变模型自身免疫反应的影响[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2014, 24 (9): 815-821.
- [14] 张野, 夏辉强, 易威威, 等. 锌指蛋白 A20 对兔腰椎间盘退变影响的实验研究[J]. *中国修复重建外科杂志*, 2021, 35 (3): 366-374.
- [15] Zhang GZ, Deng YJ, Xie QQ, et al. Sirtuins and intervertebral disc degeneration: Roles in inflammation, oxidative stress, and mitochondrial function[J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 508: 33-42.
- [16] Kerr GJ, Veras MA, Kim MK, et al. Decoding the intervertebral disc: Unravelling the complexities of cell phenotypes and pathways associated with degeneration and mechanotransduction[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2017, 62 (1): 94-103.
- [17] 马晓晖, 张伟, 刘栋, 等. 1.5T 与 3.0T MRI 弥散加权成像对腰椎间盘退变诊断价值的比较[J]. *河北医药*, 2015, 37 (7): 981-984.
- [18] 王靖文, 邹璟, 黄国付. 水通道蛋白参与电针改善

- 退变椎间盘水弥散能力的机制[J]. 时珍国医国药, 2018, 29 (1): 240-243.
- [19] 尹逊路, 金哲峰, 朱立国, 等. 力学因素对椎间盘退行性变的影响及机制[J]. 中国组织工程研究, 2022, 26 (12): 1816-1821.
- [20] 杨哲, 李树文. 脊索细胞维持椎间盘髓核软骨样细胞增殖与表型的研究进展[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20 (2): 261-266.
- [21] Han C, Zhu H. Research progress of nucleus pulposus cells phenotypic markers[J]. Rev Chin, 2011, 25 (7): 867-870.
- [22] Hunter CJ, Bianchi S, Cheng P, et al. Osmoregulatory function of large vacuoles found in notochordal cells of the intervertebral disc running title: an osmoregulatory vacuole[J]. Mol Cell Biomech, 2007, 4 (4): 227-237.
- [23] 刘亭亭, 韩长旭, 王国强. 细胞移植修复椎间盘的新视角与新进展[J]. 中国组织工程研究, 2020, 24 (1): 154-158.
- [24] 马智林, 邵增务. 脊索细胞与椎间盘退变关系研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2009, 19 (6): 470-472.
- [25] Saberi M, Zhang X, Mobasheri A. Targeting mitochondrial dysfunction with small molecules in intervertebral disc aging and degeneration[J]. Geroscience, 2021, 43 (2): 517-537.
- [26] Kang L, Xiang Q, Zhan S, et al. Restoration of autophagic flux rescues oxidative damage and mitochondrial dysfunction to protect against intervertebral disc degeneration[J]. Oxid Med Cell Longev, 2019: 7810320.
- [27] Chen S, Zhao L, Deng X, et al. Mesenchymal stem cells protect nucleus pulposus cells from compression-induced apoptosis by inhibiting the mitochondrial pathway[J]. Stem Cells Int, 2017: 9843120.
- [28] Fu F, Bao R, Yao S, et al. Aberrant spinal mechanical loading stress triggers intervertebral disc degeneration by inducing pyroptosis and nerve in growth[J]. Sci Rep, 2021, 11 (1): 772.
- [29] Huang D, Peng Y, Li Z, et al. Compression-induced senescence of nucleus pulposus cells by promoting mitophagy activation via the PINK1/PARKIN pathway[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24 (10): 5850-5864.
- [30] 陈胜, 陈明珏, 林嗣雄, 等. 线粒体功能障碍在椎间盘退变中的作用[J]. 生物骨科材料与临床研究, 2021, 18 (3): 1-5, 109.
- [31] Gruber HE, Watts JA, Riley FE, et al. Mitochondrial bioenergetics, mass, and morphology are altered in cells of the degenerating human annulus[J]. J Orthop Res, 2013, 31 (8): 1270-1275.
- [32] 路翀, 姚明鹤, 崔海舰, 等. 从筋骨理论探讨腰椎间盘退变动物模型的构建及其在中医药研究中的应用[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39 (7): 131-134.
- [33] 王红, 郭金婉, 李云泽, 等. 电针治疗腰椎间盘突出症所致下肢疼痛的临床观察[J]. 中国疼痛医学杂志, 2015, 21 (6): 479-480.
- [34] 李鹏, 刘金生, 陈湘南, 等. 腰部脊神经后支的分布与穴位关系探讨[J]. 中国针灸, 2017, 37 (6): 625-628.
- [35] 王宝凯, 刘延青. 电针夹脊穴治疗椎间盘源性腰痛的疗效观察[J]. 中国疼痛医学杂志, 2020, 26 (4): 315-317.
- [36] Liu Y, Zhao J, Tian Y. Efficacy and safety of electroacupuncture in treatment of lumbar disc herniation: A protocol for a cohort study[J]. J Tradit Chin Med, 2019, 39 (1): 127-132.
- (收稿: 2022-04-11 在线: 2022-09-23)
- 责任编辑: 段碧芳
- 英文责编: 张晶晶