

MMP-3 在大鼠突出椎间盘组织及血液中的表达与意义

覃金定, 蒋尧传, 肖荣驰

基金项目: 广西医疗卫生适宜技术与开发项目(编号:S201407-01); 桂林市科学研究与技术开发计划项目(编号:20140120-1-14)

作者单位: 541004 广西, 桂林医学院(覃金定); 541001 广西, 桂林医学院附属医院骨一科(蒋尧传, 肖荣驰)

作者简介: 覃金定(1987-), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 脊柱骨病及关节疾病的诊治。E-mail: 13768236792@163.com

通讯作者: 蒋尧传(1971-), 男, 大学本科, 学士学位, 副主任医师, 研究方向: 骨科疾病的诊治。E-mail: kyc@glmc.edu.cn

[摘要] 目的 检测大鼠突出椎间盘组织及血液中基质金属蛋白酶 3(MMP-3)含量的变化, 探讨 MMP-3 保守治疗椎间盘突出症的可行性。方法 随机将 40 只 3 月龄 SD 大鼠, 分为正常对照组、阴性对照组、实验组 1 及实验组 2, 每组 10 只。造模 45 d 后, 用 ELISA 法检测椎间盘突出组织及血液中 MMP-3 含量。结果 (1)与正常对照组相比, 实验组 1、2 的椎间盘组织及血液 MMP-3 浓度上升, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。 (2)实验组 1 椎间盘组织及血液 MMP-3 浓度较实验组 2 明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。 (3)实验组 1、2 椎间盘组织中 MMP-3 浓度的变化与血液中 MMP-3 相关系数分别为 0.835 和 0.924, 均 $P < 0.05$ 。结论 椎间盘突出再吸收过程中, 血液中 MMP-3 含量上升, 且局部椎间盘组织与血液中 MMP-3 的含量高度正相关, 临床上运用 MMP-3 局部注射非手术方法治疗椎间盘突出症的设想可能行不通。

[关键词] 椎间盘突出; 再吸收; 基质金属蛋白酶; 酶联免疫吸附试验

[中图分类号] R 318 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2015)03-0205-05

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2015.03.04

Expression and significance of MMP-3 in prominent intervertebral disc tissue and blood in rat model of intervertebral disc herniation QIN Jin-ding, JIANG Yao-chuan, XIAO Rong-chi. Department of Orthopaedics, the Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guangxi 541001, China

[Abstract] **Objective** To detect the change of MMP-3 in the prominent intervertebral disc tissue and blood in rats of intervertebral disc herniation to explore the feasibility of conservative treatment for intervertebral disc herniation with MMP-3. **Methods** Forty SD rats (only 3 months of age) were randomly divided into normal control group, negative control group, experimental group 1 and experimental group 2, 10 in each group. The MMP-3 content in disc herniation organization and the blood were detected with enzyme-linked immunosorbent assay method after 45 days of experiment. **Results** (1)The expression of MMP-3 was significantly higher in the experimental group 1 and group 2 compared with that of normal control group ($P < 0.05$); (2)The express of MMP-3 was significantly higher in group 1 compared with that of group 2 ($P < 0.05$); (3)the concentration of MMP-3 between intervertebral disc tissue and blood in group 1 and group 2, had a linearly relating, and the correlation coefficients were 0.835, and 0.924 ($P < 0.05$). **Conclusion** The content of MMP-3 in the blood rises in the process of intervertebral disc herniation resorption, and content of MMP-3 in local intervertebral disc tissue is highly correlated with the level of that in the blood, idea of nonsurgical treatment by local injections with MMP-3 to cure intervertebral disc herniation may not come true in the clinical use.

[Key words] Intervertebral disc erniation; Resorption; MMP-3; Enzyme-linked immunosorbent assay

Kirkaldy-Willis 等^[1]1978 年在实验重现了椎间盘突出整个病理过程后, 首次提出椎间盘突出后存在椎间盘组织的再吸收现象。此后, 随着影像学

的发展与应用, 椎间盘退变后髓核组织再吸收现象的报告越来越多。目前应用于椎间盘突出症的外科治疗手段日趋成熟, 但是手术费用昂贵等弊端加重

了患者及其家庭的经济负担,董均成^[2]运用干扰电等物理保守治疗方法治疗腰椎间盘突出症患者,取得了一定疗效,但是其方法治疗周期长,容易加重患者的心理负担,亦并非理想的方法。在临床实践中发现,随着椎间盘突出症患者突出组织的再吸收,患者的症状及体征得到明显的改善。提示我们是否可以根据其吸收的机制进行非手术治疗就可以达到缓解症状甚至治愈的目的。Bachmeier 等^[3]运用免疫组化和实时反转录聚合酶链反应(RT-PCR)对退变椎间盘髓核组织进行分析,结果显示髓核标本中 MMPs(Matrix Metalloproteinases),即基质金属蛋白酶表达最明显,其在分子水平对退变椎间盘髓核组织再吸收的可能机制进行了研究,结果认为 MMPs 可被认为是椎间盘退变突出后再吸收过程中的重要共同通道。因此,在椎间盘退变突出后,基质金属蛋白酶在其再吸收中可能起着非常重要的作用。人们开始展望在临床采取局部治疗腰椎间盘突出症。但是,众多学者的研究结果表明,血液中的 MMPs 浓度的异常变化,具有明显的临床意义^[4,5]。为明确腰椎间盘突出症患者当中局部组织及血液中的 MMP-3 变化及其相互关系,从而为局部注射 MMPs 治疗椎间盘突出的设想提供理论依据,我们从 2014-07 ~ 2014-08 中旬主要针对 MMP-3 进行动物实验研究。报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 实验用 SD 大鼠 40 只,3 个月龄大,雄性,健康,体重(300 ± 20)g。将 40 只 SD 大鼠采用随机数字表的方法分为实验组 1、实验组 2、阴性对照组和正常对照组,每组 10 只。大鼠基质金属蛋白酶 3(MMP-3)ELISA96T 试剂盒(购自上海源叶生物科技有限公司,编号 41653);光栅型连续波长酶标仪(购自美国 Bio-rad 公司,型号 infinite M200 PRO 仪器编号 20111570)等。

1.2 动物模型建立

1.2.1 实验组 (1)采用新配 10%水合氯醛(0.4 ml/100 g)腹腔注射全麻;麻醉成功后,剃去背部及尾椎近根部体毛,常规碘伏消毒,铺巾,从 10 只大鼠尾椎中切取 4 个椎间盘组织。(2)无菌条件下右侧腰背部后路切开背部皮肤,劈开竖脊肌,并用钳子扩大肌肉裂隙成一小腔。(3)将取出尾椎椎间盘放置于扩大间隙内后,缝合皮肤,将该 10 只大鼠标志为实验组 1。另取 10 只大鼠,只取出 2 个椎间盘组织,按照同样方法放置处理,记为实验组 2。

1.2.2 阴性对照组 取 10 只大鼠,无菌条件下离

断尾巴,并单纯劈开竖脊肌,扩大肌肉裂隙后直接缝合,未放置椎间盘组织。

1.2.3 正常对照组 取 10 只大鼠,不进行任何处理。

1.2.4 实验组及阴性对照组的处理 手术缝合后及术后第 1、第 2 天行青霉素肌注预防感染(20 U/d)。全部大鼠在相同条件下饲养。

1.3 实验检测液体的准备 获取椎间盘组织研浆:动物在造模 45 d 后处死。实验组 1 每只大鼠埋植 4 个椎间盘,取其中 2 个椎间盘。实验组 2 每只大鼠埋植 2 个椎间盘,取其中一个椎间盘。正常对照组及阴性对照组分别留取 2 个椎间盘。将留取椎间盘组织加入适量的冰蒸馏水捣碎,在 3 000 r/min 离心 10 min,取上清液。获取血液:40 只大鼠行下腔静脉取血 2 ml,不加肝素抗凝剂试管收集血液后,3 000 r/min 离心 10 min,将血清和红细胞迅速小心分离,取上清液。

1.4 双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验 MMP-3 检测 具体步骤:(1)收集好不加抗凝剂血液后,在 3 000 r/min 离心 30 min 取上清液待测;将收取椎间盘组织加入适量冰生理盐水捣碎,在 3 000 r/min 离心 10 min,取上清液待测。(2)从室温平衡 20 min 后的铝箔袋中取出所需板条。(3)设置标准孔和样本孔,标准品孔(设 1 副孔)各加入不同浓度的标准品 50 μl。(4)样本孔先加入待测样本 10 μl,再加样本稀释液 40 μl。(5)标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的检测抗体 100 μl,用封板膜封住反应孔,37 °C 恒温箱温育 60 min。(6)移去液体,吸水纸上拍干,每孔加满洗涤液,静置 1 min,甩去洗涤液,吸水纸上拍干,如此重复洗板 5 次。(7)每孔加入底物 A、B 各 50 μl,37 °C 避光孵育 15 min。(8)每孔加入终止液 50 μl,15 min 内,在 450 nm 波长处测定各孔的 OD 值。

1.5 实验数据筛选及统计学方法 以浓度为 0 标准品的 OD 值为 OD 阴性对照。若大于规定阴性对照 OD 值的 2.1 倍即为阳性,即可认为数据可靠。根据标准品浓度及 OD 用 Microsoft Excel 工作表求拟合曲线及方程。其余数据用 SPSS11.0 软件进行统计学处理。多组数据间均数比较采用方差分析,组间均数比较采用 LSD 检验;并进行线性相关分析;检验水准 α = 0.05。

2 结果

2.1 造模 45 d 后大体观察结果 植入的椎间盘与周围组织互相粘连,但仍可用器械分离,与植入前相比,体积并没有明显的变化。见图 1,2。



图1 从大鼠尾椎中取出的正常椎间盘组织



图2 造模 45 d 后局部肉眼观察结果示,标本与局部组织不同程度粘连,但可用器械分离

2.2 酶联免疫吸附试验结果 试剂盒标准浓度为 0、1.5、3、6、12、24 ng/ml, 根据标准浓度及其吸光度值, 利用 Microsoft Excel 工作表处理得曲线。见图 3。

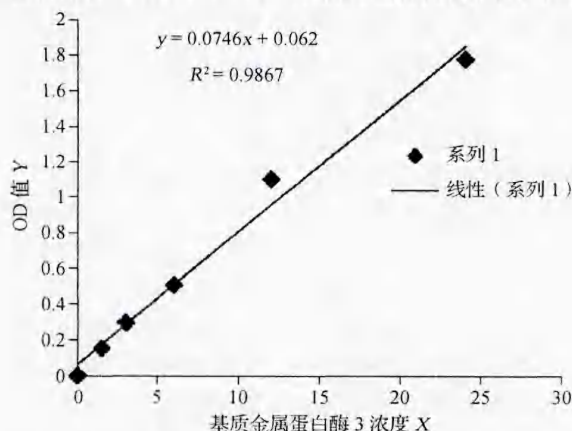


图3 标准品基质金属蛋白酶 3 浓度与吸光度值的对应关系

将各组检测所得 OD 代入公式 $y = 0.0746x + 0.062$, 并用 SPSS11.0 统计软件进行方差分析得各组椎间

盘组织及血液中 MMP-3 含量的比较结果见表 1 (血液 MMP-3 浓度方差齐性检验: Test of Homogeneity of Variances $\alpha = 0.212$, 椎间盘组织浓度的方差齐性检验结果为 $\alpha = 0.203$, 皆大于方差齐性检验水准 0.05, 方差齐)。阴性对照组、实验组 1 及实验组 2 血液中 MMP-3 浓度值较正常对照组明显升高 ($P < 0.05$), 实验组 1 与实验组 2 比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。阴性对照组与正常对照组椎间盘组织中 MMP-3 浓度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。实验组 1、实验组 2 椎间盘组织研浆 MMP-3 含量较正常对照组明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表1 各组血液、椎间盘组织研浆中 MMP-3 浓度的比较 [$(\bar{x} \pm s)$, ng/ml]

组别	动物数(只)	血液中 MMP-3	椎间盘研浆 MMP-3
正常对照组	10	0.3586 $\pm$ 0.0061	0.3177 $\pm$ 0.0073
阴性对照组	10	0.3689 $\pm$ 0.0078	0.3183 $\pm$ 0.0056
实验组 1	10	0.4217 $\pm$ 0.1052	0.4524 $\pm$ 0.108
实验组 2	10	0.4084 $\pm$ 0.0070	0.4423 $\pm$ 0.0078
F	—	143.65	850.88
P	—	0.000	0.000

注: 正常对照组与阴性对照组比较, 血浆 ($P = 0.04$), 椎间盘 ($P = 0.0873$); 正常对照组与实验组 1 比较, 血浆 ($P = 0.000$), 椎间盘 ($P = 0.000$); 正常对照组与实验组 2 比较, 血浆 ($P = 0.000$), 椎间盘 ($P = 0.000$); 阴性对照组与实验组 1 比较, 血浆 ($P = 0.000$), 椎间盘 ($P = 0.000$); 阴性对照组与实验组 2 比较, 血浆 ($P = 0.000$), 椎间盘 ($P = 0.000$); 实验组 1 与实验组 2 比较, 血浆 ($P = 0.004$), 椎间盘 ($P = 0.009$)

2.3 Pearson 相关分析结果 分别对实验组 1、实验组 2 血液中 MMP-3 浓度与椎间盘突出模型局部椎间盘组织 MMP-3 浓度变化进行 Pearson 相关分析, 结果相关系数分别为 0.835 和 0.924, 均 $P = 0.000$ 。

3 讨论

3.1 基质金属蛋白酶研究相关背景 椎间盘突出再吸收现象被临床骨科医师发现已久, 随着影像技术的发展, 再吸收变化过程更加被学者们所熟悉, 作为吸收重要因素之一的基质金属蛋白酶族, 也时刻吸引着学者们的关注, 并有学者展望运用局部注射 MMPs 的方法非手术治疗椎间盘突出症。MMPs, 即基质金属蛋白酶, 是一个包含 23 个成员的酶家族, 他们以 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 等金属离子作为辅助因子^[6,7]。MMPs 的分类方法主要有三种, 按发现先后顺序, 分别命名为 MMP-1 ~ MMP-19。按 MMPs 的底物分为 4 大类, 即胶原酶, 明胶酶, 基质溶解酶, 膜型 MMPs^[8];

按 MMPs 的分子量分类,如 72 kD 胶原酶(MMP-2)、92 kD 胶原酶(MMP-9)等。MMPs 可催化分解包括胶原蛋白、弹性蛋白、层黏蛋白、纤维黏连蛋白等物质。椎间盘组织由丰富的细胞外基质及少量的椎间盘细胞构成。细胞外基质代谢失衡在椎间盘突出物的发生、发展及再吸收过程中有重要的作用,TIMPs 及 MMPs 是基质代谢失衡发生的两类主要的因子。当椎间盘发生一定程度的退变时,MMPs 表达增加,TIMPs 及 MMPs 失衡,细胞外基质降解加速,TIMPs 通过直接抑制 MMPs 的分泌来减缓细胞基质的降解速度。但是,随着椎间盘退变突出程度的加重,MMPs 降解酶的活性升高,同时,IL-1 可以抑制组织金属蛋白酶抑制剂(TIMPs)的合成^[9],TIMPs 降解酶抑制剂的含量降低,导致了 MMPs/TIMPs 比值明显升高,细胞外基质代谢失衡,蛋白多糖、胶原等结构及成分发生改变,进而加快椎间盘突出组织的降解^[10]。Roberts 等^[11]对手术切除的椎间盘标本进行免疫组化分析,发现突出的椎间盘标本中存在大量有活性的 MMPs,并指出这些酶类是由侵入椎间盘内的血管、巨噬细胞和椎间盘细胞产生的。椎间盘退变突出的过程中,这些调节椎间盘细胞外基质代谢的降解酶的活性升高,同时其相对应抑制酶的活性降低,最终加速椎间盘突出组织的降解,这不仅指出 MMPs 参与椎间盘退变后椎间盘再吸收的总体过程,也提示:退变椎间盘组织再吸收的过程中 MMPs 与椎间盘、巨噬细胞、新生血管等的内在联系。因此,对基质金属蛋白酶在椎间盘再吸收过程中作用的深入研究,进而将它转变成为临床治疗椎间盘突出症的重要手段,从而减轻该类患者因手术所带来的经济负担及手术各种并发症带来的心理压力,具有深远的意义。但是,突出组织局部 MMPs 浓度变化与血液循环系统中的 MMPs 的浓度变化情况,二者是否有联系和联系的密切程度,找到这些问题的答案,是将这一设想付诸临床实践的前提。本实验探讨了大鼠椎间盘突出模型中局部突出椎间盘组织及血液中的 MMP-3 含量变化程度、影响因素以及二者间的关系,从而为临床局部治疗椎间盘突出症提供更丰富的实验依据。

3.2 肌肉间隙植入椎间盘组织造模方式的建立

关于再吸收现象研究的动物模型建立方面,国内外尚无明确定论,刘锦涛等^[12]采取将椎间盘组织埋植在椎管内的造模方法进行研究,在预实验中发现,术中局部渗血止血难以达到满意程度,且植入椎间盘由于含水量较高,活动性相对较好,有可能沿着椎管

游走。局部渗血可能对指标的观察造成严重的干扰,如果植入椎间盘髓核组织“游走”丢失,将导致实验难以继续进行。李晶等^[13]采用椎管内、肌肉中及皮下埋植椎间盘组织的造模方法对椎间盘组织再吸收现象进行研究发现,在椎管内埋植椎间盘组织与肌肉中埋植椎间盘组织的模型建立方法结果无明显区别,二者与皮下埋植椎间盘组织的造模方法结果有明显不同。因此本实验采取了操作更为方便的肌肉内埋植椎间盘组织造模。

3.3 造模后观察时间的确定 Mochida 等^[14]随访了 38 例颈椎间盘突出患者后发现,游离型突出椎间盘组织的再吸收现象主要发生在突出的早期。Habtemariam 等^[15]在椎间盘突出再吸收现象研究中对动物实验造模后 1~3 月进行观察,发现造模后一月即存在巨噬细胞等炎症细胞浸润。Autio 等^[16]对因椎间盘组织突出致坐骨神经痛患者行多次 MRI 扫描,结果显示发病 2 个月内突出椎间盘组织重吸收现象比较明显。因此本实验采用周期适中的 45 d 造模时间进行观察。

3.4 造模后局部组织变化的原因分析 在造模 45 d 后大体观察,植入的椎间盘与周围组织互相粘连,但仍可用器械分离,与植入前相比,体积并没有明显的变化,这与 Mochida^[14]及 Autio 等^[16]的临床观察发现结果并不完全一样,其原因可能与突出的椎间盘退变程度有关。实验中造模的椎间盘组织是正常组织,免疫原性较低,局部组织的炎症及免疫等反应较轻微,在突出的短期内,椎间盘的退变程度不明显,TIMPs 通过直接抑制 MMP-3 的分泌来减缓细胞基质的降解速度,局部组织中 MMP-3 的浓度含量有限,因而并没有发生较明显的再吸收。对上述椎间盘突出症案例追踪的腰椎磁共振表现可以看到患者局部突出的椎间盘组织的吸收也没有出现在突出的早期,而是在过了椎间盘突出数年之后。其原因很大可能是患者椎间盘突出为扭伤所致,椎间盘组织退变程度较轻微,局部酶分泌量少。由此可见,椎间盘突出的再吸收的程度与突出组织的退变程度可能有着一定的关系。患者局部突出椎间盘组织消失时间较晚,但是,患者的症状及体征在早期即可得到较为明显的改善。在临床中,一般来说,腰椎间盘突出后自然吸收多见于椎间盘变性程度高的成年人,谢林等^[17]利用 MR 随访观察颈椎间盘突出患者,发现存在着自然消退,且与症状缓解呈正相关。临床上偶尔会遇到较年轻的腰椎间盘突出症患者,其症状与体征的变化与突出组织的消失并非正相关,提示

人们对于年轻的椎间盘突出患者,机体有可能在早期主要是以减轻疼痛为主的炎症抑制状态,而后期则以促进突出组织吸收的炎症状态占优。

3.5 实验中各浓度变化的意义 实验组 1 及实验组 2 突出椎间盘组织中 MMP-3 的浓度较正常对照组及阴性对照组中的浓度值明显上升,差异有统计学意义,进一步证明 MMP-3 可能是椎间盘突出再吸收的重要因素;实验组 1 中局部椎间盘组织 MMP-3 浓度值较实验组 2 高,差异有统计学意义,说明同一类型(脱出型)椎间盘突出症,突出组织含量越高,局部炎症等反应越明显,这与俞振翰等^[18]研究发现:突出物越大越容易吸收或者缩小的结果相呼应;阴性对照组血液中 MMP-3 的浓度较空白对照组高,差异有统计学意义,说明机体受到创伤时,血液中的 MMP-3 的含量可能会受影响,可以引起血液 MMP-3 的升高,但是升高程度不明显,该物质参与机体的炎症反应。实验组 1、2 的血液中 MMP-3 含量较正常对照组及阴性对照组都高,差异有统计学意义,且血液中 MMP-3 的升高程度与与椎间盘组织中 MMP-3 升高相对应,突出物越多(体积或者质量越大),局部组织中 MMP-3 浓度越高,血液中的 MMP-3 升高亦较明显,二者呈高度的相关性。该结果提示我们,在椎间盘突出再吸收的过程中,局部组织的 MMP-3 升高,从而促进再吸收的进行,同时,血液中的 MMP-3 浓度会相应升高,这有可能会引起关节炎及心血管等疾病。局部组织与血液中的 MMP-3 浓度的变化关系,值得人们对运用局部注射 MMP-3 治疗椎间盘突出症的非手术方法进行重新的思考:人为局部给与外来的 MMP-3,是否会引起血液中 MMP-3 含量的上升,血液中酶的上升程度与注射剂量的关系如何,血液中酶的升高是否会真正导致其他疾病的发生,这些都需要进行反复的实验验证,同时,人与动物生理结构与功能区别明显,椎间盘突出的患者,局部组织中 MMP-3 升高的同时,是否会引起血液中 MMP-3 明显的升高,这需要进行临床的相关检测。

综上所述,目前根据椎间盘的再吸收机制运用局部注射 MMP-3 的非手术方法治疗椎间盘突出症的设想可行性不大。

参考文献

- 1 Kirkaldy-Willis WH, Wedge JH, Yong-Hing K, et al. Pathology and pathogenesis of lumbar spondylosis and stenosis[J]. Spine(Phila Pa 1976), 3(4):319-328.
- 2 董均成. 干扰电牵引蜡疗电针联合治疗腰椎间盘突出症的疗效观察[J]. 中国临床新医学, 2013, 6(7): 644-646.
- 3 Bachmeier BE, Nerlich A, Mittermaier N, et al. Matrix metalloproteinase expression levels suggest distinct enzyme roles during lumbar disc herniation and degeneration[J]. Eur Spine J, 2009, 18(11): 1573-1586.
- 4 吴健, 陈应柱, 俞龙. 血清基质金属蛋白酶-3 水平在不同 OC-SP 亚型老年急性脑梗死患者血清中的变化[J]. 实用临床医药杂志, 2013, 17(21): 40-42.
- 5 谭柏松, 黄小兵, 刘光明, 等. 血清 RF、抗 CCP 抗体及 MMP-3 联合检测在类风湿关节炎早期诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(9): 1087-1088.
- 6 荆鹏伟, 刘泽汉, 何旭, 等. 基质金属蛋白酶与椎间盘的退变[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(33): 6244-6248.
- 7 Knapinska A, Fields GB. Chemical biology for understanding matrix metalloproteinase function[J]. ChemBiochem, 2012, 13(14): 2002-2020.
- 8 Sedlacek R, Mauch S, Kolb B, et al. Matrix metalloproteinase MMP-19(RASI-1) is expressed on the surface of activated peripheral blood mononuclear cells and is detected as an autoantigen in rheumatoid arthritis[J]. Immunobiology, 1998, 198(4): 408-423.
- 9 Yurube T, Takada T, Suzuki T, et al. Rat tail static compression model mimics extracellular matrix metabolic imbalances of matrix metalloproteinases a, aggrecanases, and tissue inhibitors of metalloproteinases in intervertebral disc degeneration[J]. Arthritis Res Ther, 2012, 14(2): R51.
- 10 陶帅, 姜宏, 李晓春, 等. 腰椎间盘突出后重吸收的机制研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(1): 103-106.
- 11 Roberts S, Caterson B, Menage J, et al. Matrix metalloproteinases and aggrecanase: their role in disorders of the human intervertebral disc[J]. Spine(Phila Pa 1976), 2000, 25(23): 3005-3013.
- 12 刘锦涛, 姜宏, 王拥军, 等. 大鼠破裂型椎间盘突出模型的建立及突出物重吸收机制的研究[J]. 中国骨伤, 2010, 23(5): 370-372.
- 13 李晶, 周江南, 李康华, 等. 突出腰椎间盘组织再吸收现象的机制研究[J]. 中华骨科杂志, 2002, 22(6): 343-346.
- 14 Mochida K, Komori H, Okawa A, et al. Regression of cervical disc herniation observed on magnetic resonance images[J]. Spine(Phila Pa 1976), 1998, 23(9): 990-995.
- 15 Habtemariam A, Virri J, Grönblad M, et al. Inflammatory cells in full-thickness anulus injury in pigs. An experimental disc herniation animal model[J]. Spine(Phila Pa 1976), 1998, 23(5): 524-529.
- 16 Autio RA, Karppinen J, Niinimäki, et al. Determinants of spontaneous resorption of intervertebral disc herniations[J]. Spine(Phila Pa 1976), 2006, 31(11): 1247-1252.
- 17 谢林, 金哲, 金明熙, 等. 颈椎间盘突出物的自然消退[J]. 中国临床康复, 2002, 6(6): 796, 805.
- 18 俞振翰, 姜宏, 周红海. 腰椎间盘突出后的重吸收研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2012, 28(4): 397-400.

[收稿日期 2014-10-08][本文编辑 杨光和]